

Université de la Méditerranée (Aix-Marseille II)
Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé d'Aix-Marseille Université

Laboratoire de Neurobiologie des Canaux Ioniques INSERM, UMR 641

THESE DE DOCTORAT

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LA MEDITERRANEE
Spécialité Neurosciences

PLASTICITE INTRINSEQUE DES NEURONES DE LA REGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE DE RAT

Présentée et soutenue par

Emilie CAMPANAC

le 12 Mars 2008
devant le jury composé de :

Dr. Geneviève Rougon	Président
Dr. Stéphane Dieudonné	Rapporteur
Dr. Jean-Christophe Poncer	Rapporteur
Dr. Christophe Mulle	Examineur
Dr. Fabien Tell	Examineur
Dr. Dominique Debanne	Directeur de thèse

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Neurobiologie des Canaux Ioniques (INSERM, UMR 641), dirigé par le Docteur Michael Seagar. Je tiens à adresser mes remerciements aux nombreuses personnes qui ont contribué à sa réalisation.

Je te tiens tout particulièrement à remercier infiniment Dominique Debanne, qui a dirigé mon travail de thèse. Ce fut un plaisir de travailler à ses côtés. Il a su me communiquer sa passion pour la recherche et sa rigueur scientifique. Et surtout, merci pour sa grande disponibilité et son optimisme.

Je veux également remercier tous les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de juger mon travail de thèse. Je remercie le Docteur Geneviève Rougon d'avoir accepté de présider cette soutenance de thèse, ainsi que le Docteur Stéphane Dieudonné et le Docteur Jean-Christophe Poncer d'être rapporteurs de cette thèse. Merci au Docteur Christophe Mulle et au Docteur Fabien Tell pour leur participation au jury en tant qu'examineur.

Nombreux sont celles et ceux qui m'ont apporté leur aide au cours de ces années de thèse. Je remercie très chaleureusement tous les membres passés et présents de l'U641.

En particulier, je remercie tous les membres de mon équipe : Laure, Olivier, Edmond, Robert, Jean-Marc et Norbert qui m'ont conseillé, soutenu et apporté une aide précieuse.

Merci à tous ceux avec qui j'ai partagé de bons moments de détente, de rigolades et de défoulement nécessaire à notre équilibre mental.

Ce travail a été soutenu par le Ministère de L'Education Nationale, de la Recherche et de la Technologie, et par la Fondation pour la Recherche Médicale.

TABLE des MATIERES	5
AVANT PROPOS	9
RESUME	11
1. INTRODUCTION	13
1.1. Hippocampe	15
1.1.1. Généralités	15
1.1.2. Transmission glutamatergique	17
1.1.2.1. Récepteurs ionotropiques (AMPA, kaïnate et NMDA)	17
1.1.2.2. Récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR)	18
1.1.3. Transmission GABAergique	19
1.1.3.1. Récepteurs GABA _A	19
1.1.3.2. Récepteurs GABA _B	19
1.2. Intégration synaptique des neurones et couplage E-S	20
1.2.1. Sommaton et propagation dans des dendrites "passives"	20
1.2.1.1. Propriétés électriques passives et intégration synaptique	21
1.2.1.2. Intégration spatiale et temporelle	21
1.2.2. Interaction PPSE/PPSI	23
1.2.3. Rôle des canaux ioniques voltage-dépendants	25
1.2.3.1. Amplification des PPSE par les conductances intrinsèques	26
1.2.3.1.1. Courants calcium	26
1.2.3.1.2. Courant sodium	28
1.2.3.2. Atténuation des PPSE par les conductances intrinsèques	31
1.2.3.2.1. Courants potassiques	31
1.2.3.2.2. Courant H	36
1.2.3.3. Signification physiologique de l'amplification d'intégration	42
1.2.4. Initiation du potentiel d'action	43

1.3. Plasticité de la transmission synaptique	45
1.3.1. LTP et LTD homosynaptiques	46
1.3.2. LTP et LTD associatives	47
1.3.3. Mécanismes d'induction	49
1.3.4. Mécanismes d'expression	51
1.4. Plasticité de l'excitabilité neuronale dépendant de l'activité	53
1.4.1. Corrélats de l'apprentissage	53
1.4.2. LTP/LTD et plasticité à long terme de l'excitabilité	55
1.4.2.1. Plasticité postsynaptique	55
1.4.2.2. Plasticité présynaptique	59
1.4.3. Plasticité homéostatique de l'excitabilité	60
1.4.4. Plasticité de l'excitabilité et épilepsie	63
1.4.5. Autres exemples de plasticité de l'excitabilité	65
2. MATERIEL et METHODES	69
2.1. Préparation des tranches et électrophysiologie	71
2.2. Acquisition des données et analyse	73
2.3. Modèle du courant I_h et courant imposé en temps réel	74
3. RESULTATS	75
3.1. Article 1 : Spike timing-dependent plasticity: a learning rule for dendritic integration in rat CA1 pyramidal neurons	77
3.2. Article 2: Hebbian-like regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP	94
3.3. Article 3: Long-term potentiation of intrinsic excitability (LTP-IE) in clustered-spiking hippocampal interneurons	120

4. DISCUSSION	133
4.1. Plasticité E-S	135
4.1.1. STDP: règle de plasticité du couplage E-S	135
4.1.2. Amplification/Atténuation des PPSE : substrat de l'expression du couplage E-S	136
4.1.3. Spécificité spatiale des changements de la relation Amp/Pente	137
4.2. Modification du courant I_h par l'activité	138
4.2.1. Courant I_h et LTP : augmentation ou diminution ?	138
4.2.2. Courant I_h et potentialisation E-S	139
4.2.3. Restriction spatiale dans le changement du courant I_h	139
4.3. LTP-IE des interneurones	140
4.4. Perspectives	142
5. BIBLIOGRAPHIE	145
6. ANNEXE	167

LISTE des FIGURES et TABLEAUX

Figure 1: Représentation schématique de la formation hippocampique en coupe transversale	15
Figure 2: Effet de R_i et R_m sur l'atténuation des PPSE	21
Figure 3: Influence de la géométrie des dendrites et de la localisation de la synapse sur la sommation des PPSE	22
Figure 4: Atténuation des potentiels synaptiques	23
Figure 5: Influence de la relation spatiale entre inhibition et excitation sur l'intégration dendritique	24
Figure 6: Amplification des PPSE par le courant calcique $I_{Ca,T}$ dans les neurones pyramidaux CA1 de l'hippocampe	27
Figure 7: Amplification des PPSE et PPSI par le courant $I_{Na,p}$	29

Figure 8: Atténuation des PPSE par le courant potassique I_A dans les neurones pyramidaux du cortex et CA1 de l'hippocampe	33
Figure 9: Rôle de l'AHP dans les neurones CA1 de l'hippocampe	35
Figure 10: Gradient croissant de la densité du courant I_h et de la concentration en canaux HCN1 et HCN2	37
Figure 11: Mise en forme des PPS par le courant I_h	39
Figure 12: Normalisation des PPSE le long des dendrites par I_h	40
Figure 13: Interactions protéique du canal HCN	41
Tableau 1: Propriétés des canaux	42
Figure 14: Règles de plasticité synaptique	48
Figure 15: Mécanisme d'induction et d'expression de la LTP et de la LTD dans la région CA1 de l'hippocampe	49
Figure 16: Expression de la LTP et de la LTD dans les neurones pyramidaux de CA1	52
Figure 17: Changement d'excitabilité intrinsèque, corrélats avec l'apprentissage	53
Figure 18: Plasticité synaptique et plasticité du couplage E-S dans CA1	56
Figure 19: LTP et modulation du courant I_h , réduction ou augmentation?	57
Figure 20: Changements bidirectionnels d'excitabilité intrinsèque du neurone présynaptique	60
Figure 21: Régulation homéostatique des canaux Kv2.1	62
Figure 22: Epilepsie et courant I_h	64
Figure 23: Unification des règles de plasticité de l'excitabilité neuronale des neurones pyramidaux de la région CA1	138
Figure 24: Différents types d'interneurones GABAergiques de la région CA1 de l'hippocampe	141

AVANT PROPOS

Au sein des réseaux neuronaux l'information nerveuse est principalement transmise d'un neurone à un autre par l'intermédiaire de synapses. Le poids de ces connexions peut être modifié sur le long terme, de quelques minutes à plusieurs jours, par l'activité neuronale (potentialisation à long terme (LTP) et dépression à long terme (LTD)). Dans l'hippocampe, cette plasticité de la transmission synaptique constitue l'un des modèles privilégiés pour les processus d'apprentissage et de mémoire.

Aujourd'hui, les mécanismes d'induction et d'expression de la plasticité synaptique sont relativement bien caractérisés et mettent en jeu des régulations des éléments pré- et postsynaptiques.

Plus récemment, il a été mis en évidence que l'activité modifie non seulement la transmission synaptique mais aussi le couplage entre les potentiels postsynaptiques (PPSE, PPSI) et le potentiel d'action (PA). Le couplage E-S (EPSP-Spike) ou I-S (IPSP-Spike) définit directement la fonction entrée-sortie du neurone et reflète son niveau d'excitabilité. Dans les neurones CA1, les changements de transmission synaptique et du couplage E-S suivent les mêmes règles de plasticité. En effet, l'induction de la LTP par stimulation à haute fréquence (HFS) des collatérales de Schaffer est associée à une facilitation du déclenchement du potentiel d'action pour un PPSE donné (=potentialisation E-S). Inversement, l'induction de la LTD par stimulation à basse fréquence (LFS) est associée à une dépression E-S. Des modifications de la transmission synaptique peuvent être également induites par un deuxième type de protocole, reposant sur la corrélation temporelle entre l'activité pré- et postsynaptique. Cette plasticité est appelée plasticité associative ou STPD (Spike-Timing Dependent Plasticity). Il apparaît donc important d'étudier les éventuels changements d'intégration accompagnant cette plasticité.

La plasticité de l'intégration fait intervenir des régulations des conductances ioniques dépendantes du voltage présentes à la surface membranaire du neurone via des changements de leur propriétés biophysiques ou de leur nombre. Ainsi plus particulièrement, le rôle du courant I_h dans l'expression de la potentialisation E-S sera examiné.

Il existe aujourd'hui dans la littérature de nombreuses évidences de changements d'excitabilité des cellules principales excitatrices (pyramidales du cortex ou de l'hippocampe) ou inhibitrices (cellules de Purkinje du cervelet). Cependant il est important d'envisager une plasticité intrinsèque des interneurones afin de garder un certain équilibre dans le réseau.

Ce travail de thèse concerne les modifications d'excitabilité intrinsèque des neurones de la région CA1 de l'hippocampe de rat *in vitro*.

En introduction sont abordées des généralités sur l'organisation structurale et fonctionnelle de l'hippocampe. Dans une seconde partie sont décrits les mécanismes d'intégration dendritique des PPS, et tout particulièrement le rôle des conductances ioniques voltage-dépendantes dans les mécanismes d'amplification et d'atténuation des PPS. Après avoir rappelé les mécanismes d'induction et d'expression de la LTP et de la LTD dans une troisième partie, une revue de l'état actuel des connaissances concernant la plasticité de l'excitabilité intrinsèque fait l'objet de la quatrième et dernière partie.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse sont exposés sous formes d'articles (publiés ou en voie de soumission).

Pour finir, les résultats seront discutés plus largement par rapport aux données bibliographiques récentes.

En annexe, je joins un article sur le rôle du courant I_h dans l'organisation temporelle de l'activité du réseau hippocampique in vitro.

RESUME

Il a été préalablement montré dans les neurones pyramidaux de CA1 qu'en plus d'une plasticité synaptique à long terme, les protocoles de téτανisation des afférences (HFS/LFS) induisent une plasticité synergique de l'intégration des messages synaptiques. Dans ce contexte, nous avons abordé les questions suivantes: 1) des changements d'intégration dendritiques sont-ils associés à la STDP ? 2) quels sont les mécanismes d'expression de la facilitation de l'intégration observée après la LTP ? et 3) dans quelle mesure l'activité synaptique induit des changements persistants de l'excitabilité des interneurones GABAergiques ?

Nos résultats montrent que la règle préétablie de STDP pour la plasticité synaptique est aussi valide pour la plasticité de l'intégration et décrit aussi parfaitement les changements de la relation Amplitude/Pente des PPSE observés en parallèle. Ces changements sont spécifiques de la voie synaptique activée et nécessitent l'activation des récepteurs NMDA.

La plasticité de l'intégration met en jeu une régulation des conductances voltage-dépendantes présentes à la surface neuronale. Une réduction locale dendritique, NMDAR-dépendante du courant I_h est observée lors de l'augmentation d'intégration associée à la LTP. En présence de bloqueurs pharmacologiques du courant I_h , la LTP est toujours présente mais la facilitation de l'intégration n'est plus observée. Finalement, une facilitation de l'intégration similaire à celle observée après induction de la LTP est induite quand la conductance h est réduite dans la dendrite par la technique de courant imposé dynamique en temps réel.

Des changements de l'excitabilité neuronale ne sont pas restreints aux neurones pyramidaux et nous montrons qu'une augmentation de l'excitabilité intrinsèque, dépendante des récepteurs mGluR de type I est également observée dans certains interneurones GABAergiques de CA1 après une HFS. Cette augmentation d'excitabilité pourrait permettre de maintenir l'équilibre entre excitation et inhibition au sein du réseau hippocampique en facilitant le recrutement des interneurones à la suite d'épisodes d'hyperactivité.

Nos résultats montrent donc qu'en parallèle des modifications de l'efficacité synaptique, des modifications de l'excitabilité intrinsèque des neurones peuvent participer au processus de stockage de l'information et permettent également de maintenir l'activité neuronale à un niveau physiologique.

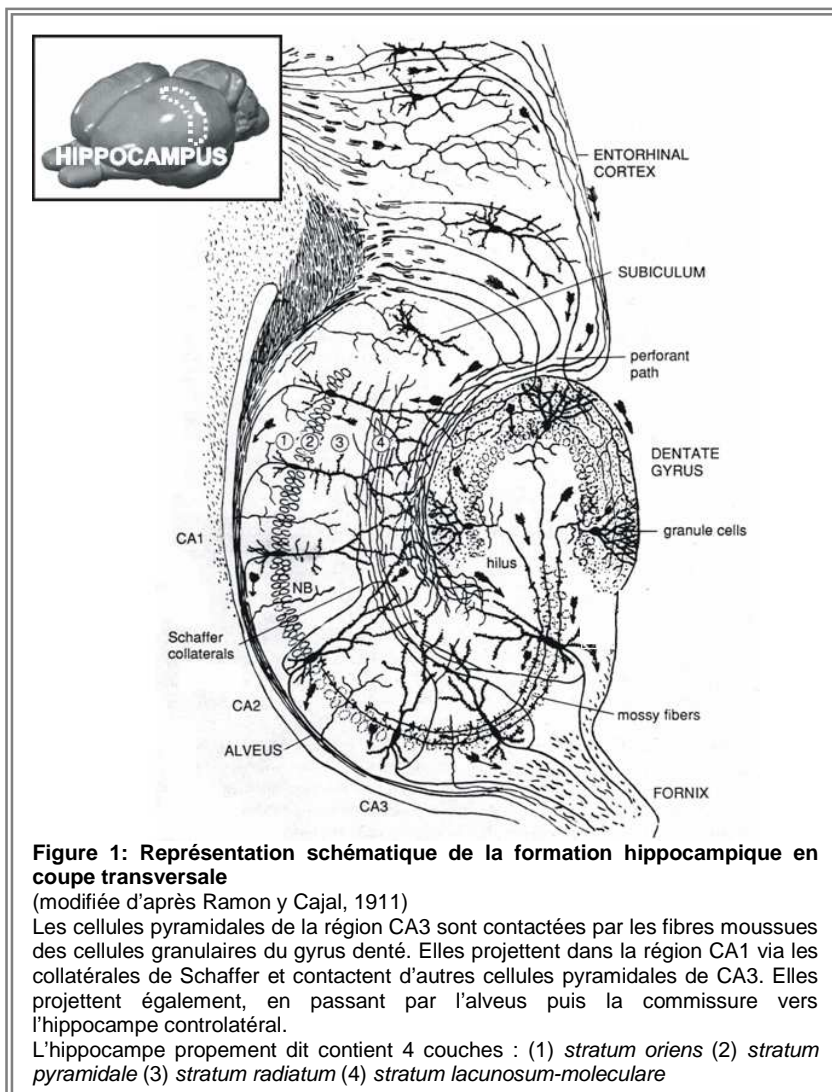
1.INTRODUCTION

1.1. Hippocampe

1.1.1. Généralités

L'hippocampe (ou corne d'Ammon), structure cérébrale appartenant au système limbique, comporte trois régions : CA1, CA2 et CA3. La distinction se fait en fonction de la morphologie des cellules et des afférences reçues (Lorente de No, 1934). La formation hippocampique quant à elle est constituée de l'hippocampe, du gyrus denté et du *subiculum* (Figure 1). Elle peut être schématisée en un circuit exciteur unidirectionnel tri-synaptique avec comme relais les cellules granulaires du gyrus denté et les cellules pyramidales (Andersen et al., 1969).

Les cellules granulaires reçoivent principalement les afférences provenant des cellules étoilées et pyramidales de la couche II et III du cortex entorhinal (voie perforante). Les cellules granulaires



projetent leurs axones (fibres moussues) vers la région CA3. Ces fibres suivent parallèlement la couche pyramidale dans le *stratum lucidum* et établissent en passant le deuxième relais via des contacts géants au niveau des dendrites proximales des cellules pyramidales.

Les cellules pyramidales de CA1 sont la cible préférentielle des collatérales axonales des cellules pyramidales de CA3 (collatérales de Schaffer) qui se projettent majoritairement au niveau du *stratum radiatum* mais aussi du *stratum oriens*.

Les projections des cellules pyramidales de CA1 sont le *subiculum* et les couches profondes (V et VI) du cortex entorhinal, bouclant ainsi le circuit.

Comme le *subiculum* a pour cible les couches V et VI du cortex entorhinal, ce dernier constitue donc par la voie perforante l'afférence majeure mais aussi une des efférences principales de l'hippocampe.

La relative simplicité de ce circuit, son organisation en couches fonctionnellement et anatomiquement quasi-indépendantes, ainsi que la préservation des connexions lors de la réalisation de tranches transversales d'hippocampe, font de cette structure un modèle d'étude privilégié de la fonction synaptique.

Il est important également de noter que des collatérales excitatrices sont établies entre cellules pyramidales de la région CA3. Ces contacts excitateurs récurrents peuvent être à l'origine de synchronisations anormales associées à des crises épileptiques, notamment lorsque les tranches sont désinhibées (MacVicar and Dudek, 1980; Johnston and Brown, 1981; Miles and Wong, 1986). Les interactions excitatrices entre cellules pyramidales de CA1 sont, quant à elles, beaucoup plus rares (Christian and Dudek, 1988).

Ce circuit tri-synaptique exciteur est contrôlé par tout un réseau d'interneurones inhibiteurs à l'origine d'une inhibition antérograde (*feed-forward*) et/ou rétrograde (*feed-back*) des cellules pyramidales. Les interneurones de la formation hippocampique représentent environ 10% de la population neuronale. Leur activation se fait via les afférences extra- ou intrahippocampique (activation antérograde) ou par les cellules pyramidales de la même région (activation rétrograde). Contrairement aux cellules pyramidales qui constituent une population relativement homogène, les interneurones peuvent être subdivisés en de nombreuses catégories en fonction de leur localisation, de leur morphologie (localisation du soma, arborisation dendritique, projection axonale), et de l'expression de marqueurs cytochimiques (pour revue Freund and Buzsaki, 1996; Somogyi and Klausberger, 2005). Malgré une grande diversité des caractéristiques électrophysiologiques au sein des interneurones, rendant leur identification délicate, il est cependant possible de les distinguer facilement des cellules pyramidales par des propriétés communes, à savoir une faible accommodation de la décharge des potentiels d'action lors d'un saut de potentiels dépolarisant, des potentiels d'action (PA) plus rapides que ceux des pyramidales et une hyperpolarisation consécutive au PA (*afterhyperpolarisation* ou AHP) plus rapide et plus ample.

A ce circuit s'ajoutent les fibres dites commissurales provenant de l'hippocampe controlatéral et les connexions ipsilatérales assurées longitudinalement par les fibres associatives (Amaral and Witter, 1989). Des fibres issues de la partie latérale du cortex entorhinal pénètrent dans la formation hippocampique par le *subiculum* (voie temporo-amygdaloïdienne) et se projettent successivement dans le *stratum lacunosum moleculare* sur les dendrites apicales des cellules de CA1, CA3 ainsi que dans le tiers externe de la couche externe de la couche moléculaire de la *fascia dentata*. L'activité de l'hippocampe est également influencée par différents neuromodulateurs. Il existe par exemple des projections sérotoninergiques provenant du raphé, des projections noradrénergiques du *locus coeruleus* et des projections cholinergiques et GABAergiques du *septum*.

La transmission synaptique au sein de la formation hippocampique est principalement assurée par le glutamate et/ou l'aspartate en ce qui concerne l'excitation et par le GABA (acide γ -aminobutyrique)

pour l'inhibition. Ces neurotransmetteurs, synthétisés et libérés par les neurones de la formation hippocampique, modulent l'activité cellulaire en activant différents types de récepteurs.

1.1.2. Transmission glutamatergique

La grande diversité fonctionnelle des récepteurs du glutamate et leur important niveau d'expression dans l'ensemble des structures du système nerveux central (SNC) placent ces récepteurs au centre de nombreux processus aussi bien physiologiques que pathologiques. Le glutamate active deux grands groupes de récepteurs : ionotropiques et métabotropiques. Il existe trois types de récepteurs ionotropiques et une famille de récepteurs métabotropiques (couplés via des protéines G à la production de seconds messagers intracellulaires).

1.1.2.1. Récepteurs ionotropiques (AMPA, kaïnate et NMDA)

Les trois types de récepteurs ionotropiques portent le nom de leur agoniste le plus sélectif : i) le récepteur AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate); ii) le récepteur kaïnate ; iii) le récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartate). Les deux premiers types sont également qualifiés de non-NMDA par opposition au dernier. Ce sont des récepteurs canaux perméables aux cations qui se différencient par leurs propriétés cinétiques, leur perméabilité au calcium ainsi que par leur modulation par des composés endogènes autres que le glutamate.

Les sous-unités entrant dans la composition des récepteurs AMPA sont synthétisées à partir de quatre gènes GluR1-4. Les récepteurs AMPA sont perméables aux cations monovalents et leur perméabilité au calcium dépend de leur composition en sous-unités. Dans les cellules pyramidales de l'hippocampe, les canaux AMPA ne sont que très peu perméables au calcium. Leur activation produit donc l'apparition d'un courant entrant résultant d'une importante entrée d'ions Na^+ , et éventuellement d'ions Ca^{2+} (si absence de GluR2) et une légère sortie d'ions K^+ à travers le canal, entraînant ainsi une dépolarisation de la cellule (pour revue Kullmann, 1999;Turrigiano, 2000;Wang et al., 2001).

Les récepteurs kaïnate sont codés par cinq gènes différents et forment deux familles. La première famille est constituée des sous-unités GluR5, GluR6 et GluR7 et la seconde par les sous-unités KA1 et KA2 (pour revue Lerma, 2003). Comme les récepteurs AMPA, les récepteurs kaïnate sont des canaux perméables aux cations et dont la perméabilité au calcium ainsi que les propriétés cinétiques dépendent également de leur composition en sous unités. L'activation de ces récepteurs peut affecter la libération du GABA et du glutamate (pour revue Kullmann, 2001). Ils sont également impliqués

dans des formes de plasticité synaptique à long terme (Castillo et al., 1997; Contractor et al., 2001; pour revue Huettner, 2001).

Cinq gènes codent pour les récepteurs NMDA. La sous-unité NR1 est nécessaire à la formation du canal tandis que les sous-unités NR2A, B, C et D lui confèrent des propriétés spécifiques. L'activation du récepteur NMDA nécessite en plus de la liaison avec son ligand une dépolarisation membranaire. En effet, pour des potentiels hyperpolarisés, le canal du récepteur est bloqué par une fixation voltage-dépendante d'ions Mg^{2+} présents dans le milieu extracellulaire. La courbe courant/potentiel du récepteur-canal NMDA possède, en présence de concentrations physiologiques de Mg^{2+} , une région de pente négative pour des potentiels plus hyperpolarisés que -40mV (Nowak et al., 1984; Mayer et al., 1984). Cette dépendance vis-à-vis du potentiel confère au récepteur NMDA des propriétés de détecteur de coïncidence ((cf. §1.3.3). Les récepteurs NMDA sont perméables aux ions monovalents et au calcium. L'influx de Ca^{2+} à l'intérieur de la cellule postsynaptique entraîne l'activation de cascades de signalisation intracellulaires. L'activité des récepteurs NMDA est notamment indispensable pour l'induction de certaines formes de plasticités neuronales, telles que la plasticité synaptique (LTP et LTD) et la plasticité de l'excitabilité (cf. §1.3.3. et 1.4.2.).

1.1.2.2. Récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR)

Les mGluR sont à la fois fonctionnellement et pharmacologiquement distincts des récepteurs ionotropiques. Ce ne sont pas des récepteurs-canaux mais des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G. A ce jour, huit sous-types de récepteurs métabotropiques au glutamate ont été clonés et caractérisés (mGluR1-8) qui sont divisés en trois groupes d'après leurs homologues de séquences, des seconds messagers impliqués (pour revue Pin and Duvoisin, 1995) et de leur profil pharmacologique : i) le groupe I contenant les mGluR1 et 5 ; ii) le groupe II avec mGluR2 et 3 ; iii) le groupe III regroupant les mGluR 4, 6, 7 et 8 (pour revue Davies et al., 1995; Ottersen and Landsend, 1997; Shigemoto et al., 1997; Schoepp et al., 1999; Tamaru et al., 2001).

L'activation des mGluR, leur distribution hétérogène pré- ou postsynaptique et la diversité d'actions de leurs seconds messagers, leur confèrent un rôle dans la régulation de nombreuses fonctions physiologiques. Ils participent ainsi par exemple à la modulation présynaptique de la libération des neurotransmetteurs et dans la plasticité des réponses synaptiques évoquées par l'activation des récepteurs AMPA ou NMDA (pour revue Anwyl, 1999).

1.1.3. Transmission GABAergique

Les actions postsynaptiques de GABA sont médiées par deux types de récepteurs, A et B, respectivement responsables de la composante rapide et lente de l'inhibition.

1.1.3.1. Récepteurs GABA_A

Les récepteurs GABA_A sont des récepteurs ionotropiques. Le canal est formé par l'assemblage pentamérique de différentes sous-unités (6 α , 4 β , 4 γ et 1 δ) lui conférant ses propriétés physiologiques et pharmacologiques. Les récepteurs GABA_A possèdent différents sites de fixation pour le GABA, mais également pour d'autres composés tels que la picrotoxine, les barbituriques, les benzodiazépines, les stéroïdes, les γ -carbolines, le zinc, et les convulsants (pour revue Sivilotti and Nistri, 1991; McKernan and Whiting, 1996). Ces substances potentialisent ou diminuent l'effet du GABA. Même si la composition en sous-unités influence la conductance, les cinétiques et la sensibilité aux modulateurs, le canal formé est dans tous les cas principalement perméable aux ions Cl⁻. Le canal possède également une certaine perméabilité pour d'autres anions et notamment pour les ions bicarbonates (HCO₃⁻). L'activité des récepteurs GABA_A peut être contrôlée par son état de phosphorylation (phosphorylation via PKA et PKC).

1.1.3.2. Récepteurs GABA_B

Les récepteurs GABA_B sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G (G_{i/o}) dont l'activation peut induire la fermeture de canaux calciques, l'ouverture de canaux potassiques ou l'inhibition de l'adénylate cyclase (pour revue Sivilotti and Nistri, 1991; Schoepp et al., 1999). Dans l'hippocampe, les récepteurs GABA_B postsynaptiques sont responsables de la composante tardive de l'IPSP évoqué, qui résulte de l'activation de conductances potassiques. Ils sont mis en jeu par la co-activation de plusieurs cellules GABAergiques présynaptiques (McLean et al., 1996b). Ces canaux potassiques sont couplés aux récepteurs GABA_B via des protéines G sensibles à la toxine pertussique et peuvent être bloqués intracellulairement par le QX-314 (Nathan et al., 1990) ou extracellulairement par le Ba²⁺. Ces canaux appartiennent à la famille des GIRK (G-protein-coupled Inwardly Rectifying K⁺ Channel) (Gahwiler and Brown, 1985; Luscher et al., 1997). Ces récepteurs sont activés par le baclofen qui est un agoniste spécifique.

1.2. Intégration synaptique des neurones et couplage E-S

Le rôle premier de la synapse est de permettre le transfert de l'information nerveuse d'un neurone présynaptique à un neurone postsynaptique. Un neurone collecte l'information issue des diverses afférences qu'il reçoit au niveau de nombreux contacts synaptiques. La majorité de ces contacts se fait sur l'arborisation dendritique mais aussi au niveau du soma. Un neurone est donc le site de convergence d'informations provenant de populations d'éléments présynaptiques, mis en jeu de manière synchrone ou non, issues d'une même population neuronales ou non. Les potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE) et inhibiteurs (PPSI) sont intégrés par sommation spatiale et temporelle au niveau du corps cellulaire du neurone pour produire un PA. Pour que la transmission de l'information soit effective, le potentiel composite (PPSE+PPSI) doit atteindre une amplitude suffisamment grande pour permettre l'initiation d'un ou plusieurs PA au niveau du segment initial de l'axone. Le potentiel membranaire de repos (V_m) de la majorité des neurones est plus hyperpolarisé que le seuil de voltage d'initiation du PA. En effet un PA est émis si la dépolarisation consécutive dépasse le seuil de déclenchement du PA, qui se situe au voisinage de -45mV dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe (Fricker et al., 1999;Staff et al., 2000). L'opération de couplage entre le PPSE et le PA, appelée couplage E-S (pour *Epsp-Spike*), apparaît donc comme fondamentale dans la fonction entrée/sortie du neurone. Le couplage E-S reflète le niveau d'excitabilité et de participation d'une voie synaptique à l'activité globale de réseau. Le principe du couplage E-S est assez simple, mais la fonction entrée/sortie est plus complexe. Pour influencer l'initiation d'un PA, les potentiels postsynaptiques PPSE et PPSI doivent rejoindre depuis leurs sites de génération la zone d'initiation du PA. Cette propagation des PPS est affectée par les propriétés passives de câble des dendrites ainsi que par la présence de conductances voltage-dépendantes. De plus la sommation de l'ensemble des PPSE et PPSI est non linéaire car déterminée par la relation spatiale qu'il existe entre chacun d'eux.

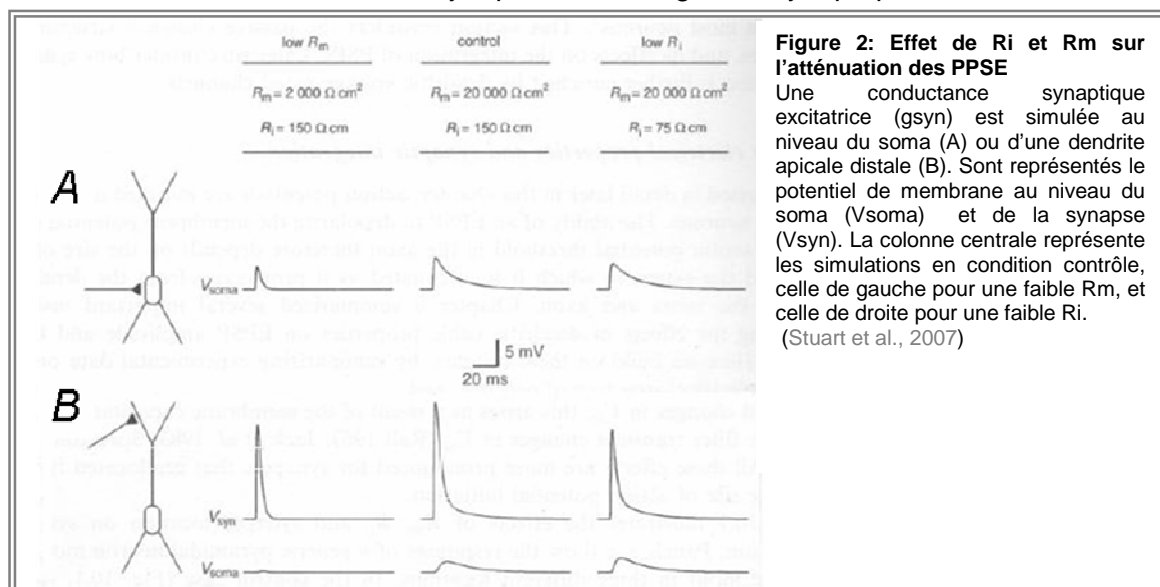
1.2.1. Sommation et propagation dans des dendrites "passives"

Le potentiel de repos (V_r) de la plupart des neurones est plus hyperpolarisé que le seuil de déclenchement du PA. De plus, la majorité des PPS unitaires sont d'amplitude trop faible pour élever le potentiel de membrane à la valeur seuil du PA. Une sommation de plusieurs entrées synaptiques est donc nécessaire pour générer un PA.

1.2.1.1. Propriétés électriques passives et intégration synaptique

La faculté d'un PPSE à dépolariser le potentiel de membrane (V_m) vers le seuil du PA dépend de son amplitude et de la manière dont il a été propagé depuis les dendrites jusqu'au soma et à l'axone. Je détaillerai ici rapidement comment les propriétés de câble des dendrites, la morphologie de la cellule et la localisation des synapses affectent l'intégration des PPSE (amplitude et décours temporel).

Trois paramètres définissent la structure électrotonique de l'arbre dendritique : la résistance membranaire (R_m), la capacitance membranaire (C_m) et la résistance intracellulaire (R_i). De grandes valeurs de R_i ainsi que de faibles valeurs de R_m augmentent l'atténuation des PPS en fonction de leur propagation passive dans les dendrites. Cette atténuation est d'autant plus importante que les changements de V_m sont rapides en raison de l'effet "capacité" de la membrane qui sert de filtre pour des changements transitoires de V_m (Rall, 1967; Spruston et al., 1994). Ce phénomène est d'autant plus marqué que la position de la synapse est loin du site d'initiation du PA. La figure 2 illustre les effets de R_m , R_i et de la localisation des synapses sur l'intégration synaptique.



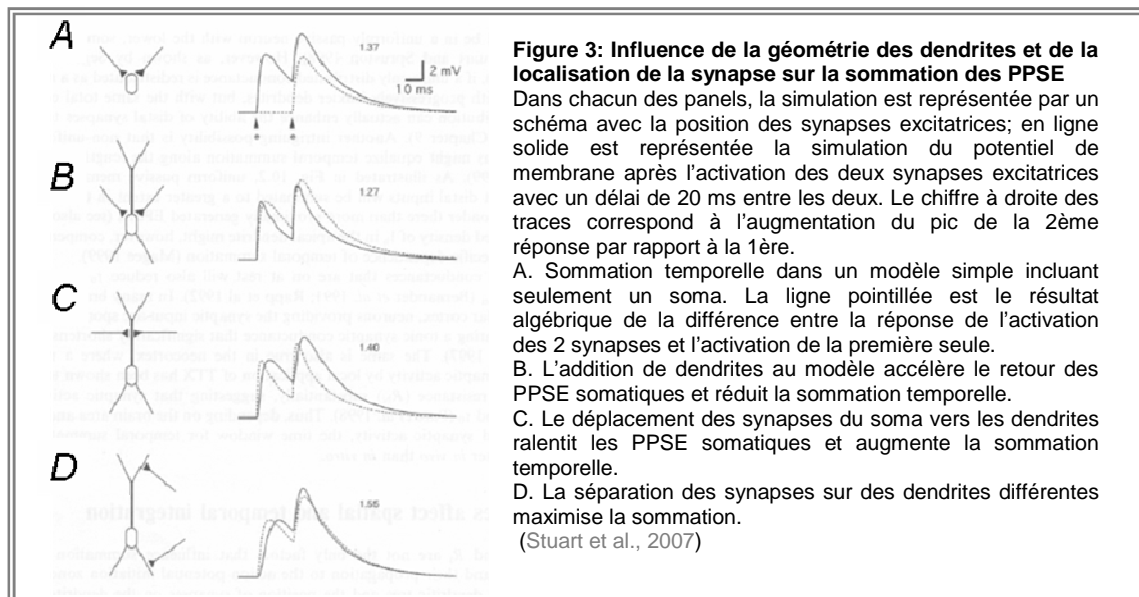
1.2.1.2. Intégration spatiale et temporelle

Un paramètre critique affectant la sommation des PPS est la constante de temps membranaire (τ_m), qui est le produit de R_m avec C_m . Pour tout changement de potentiel de membrane, la composante la plus lente de la décroissance de potentiel est déterminée par τ_m . τ_m définit donc la fenêtre temporelle durant laquelle les PPS peuvent se sommer ; pour des entrées synaptiques séparées par quelques ms mais d'un temps supérieur à τ_m la sommation temporelle devient quasi nulle.

R_m , C_m et R_i ne sont les seuls facteurs qui influencent la sommation des PPS ainsi que leur propagation jusqu'au site d'initiation du PA. La structure/forme de l'arbre dendritique et la position des synapses influencent la sommation synaptique de différentes manières (Figure 3) :

- la présence de dendrite accélère la phase de repolarisation des EPSP
- l'effet de câble filtrant dendritique entraîne un ralentissement de la cinétique des PPSE et donc augmente la sommation temporelle au niveau du soma
- la sommation est infralinéaire au niveau de synapses électrotoniquement proche (dépolérisation du 1^{er} PPSE induit une diminution de la force électromotrice lors de l'activation d'une deuxième entrée.

De nombreuses études ont exploré les propriétés électrotoniques des neurones hippocampiques, notamment les cellules granulaires, les neurones pyramidaux de CA1 et CA3 et les interneurons (Brown et al., 1981; Spruston and Johnston, 1992; Thurbon et al., 1994). La conclusion de ces études est que la constante d'espace est relativement grande (environ 2 mm) et la constante membranaire de temps courte (environ 50 ms).



Normalisation de la sommation temporelle

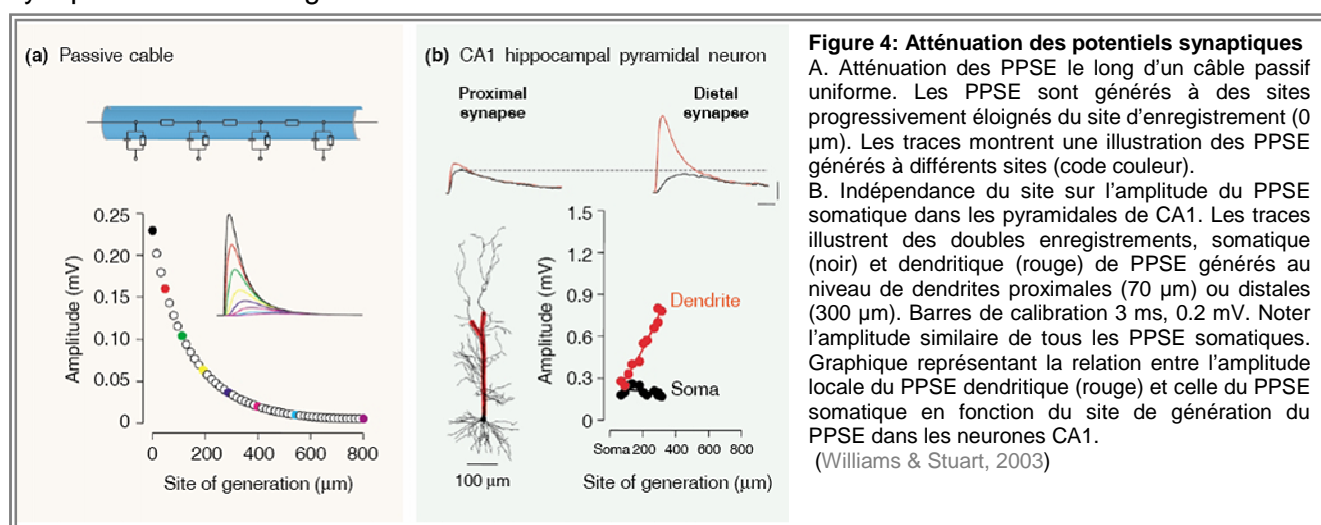
Un rôle important de la distribution non-uniforme des canaux le long des dendrites résiderait dans l'égalisation de la sommation temporelle le long de l'axe dendritique. Comme illustré dans la figure 3, les propriétés membranaires passives uniformes prédisent que les entrées distales vont se sommer avec une plus grande ampleur au niveau du soma car elles sont plus larges que les PPSE générés plus proximement. Une augmentation dans la densité de canaux HCN dans les dendrites apicales permet une normalisation de la sommation temporelle (voir §2.3.2.2). Cependant, les neurones pyramidaux ne possédant pas ou peu ce gradient de canaux HCN sont toutefois capables de normaliser la sommation temporelle par la mise en jeu d'autres canaux voltage dépendant tels que les canaux K⁺ (Williams and Stuart, 2003; Desjardins et al., 2003).

Compensation de l'atténuation dendritique

Les PPS générés dans les dendrites distales s'atténuent de manière importante au long de leur parcours jusqu'au soma, suggérant ainsi que ces synapses seraient moins efficaces que les synapses proximales dans la dépolarisation du soma ou de l'axone et donc dans la genèse de PA.

L'atténuation des PPSE et le filtrage temporel ne dépendent pas uniquement de la distance des synapses par rapport au soma mais aussi du décours temporel du PPSE (les PPSE rapides s'atténuent plus et sont plus filtrés que les PPSE lents).

Certaines synapses compensent la distance dendritique en augmentant le poids synaptique des synapses distales. Dans les neurones pyramidaux de CA1, les collatérales de Schaffer sont distribuées sur les 2/3 (quelques centaines de μm) du tronc dendritique proximal, cependant l'amplitude moyenne des PPSE enregistrés au soma provenant de ces entrées ne varie pas en fonction de la distance au soma (Figure 4). Cet équilibrage synaptique est dû à une augmentation de la densité des récepteurs AMPA (Andrasfalvy and Magee, 2001; Andrasfalvy et al., 2003; Smith et al., 2003). Ce phénomène d'équilibrage synaptique n'est pas présent dans les pyramiales de la couche V du néocortex, ce qui suggère ainsi l'existence d'autres mécanismes permettant la participation des synapses distales à la génération des PA.



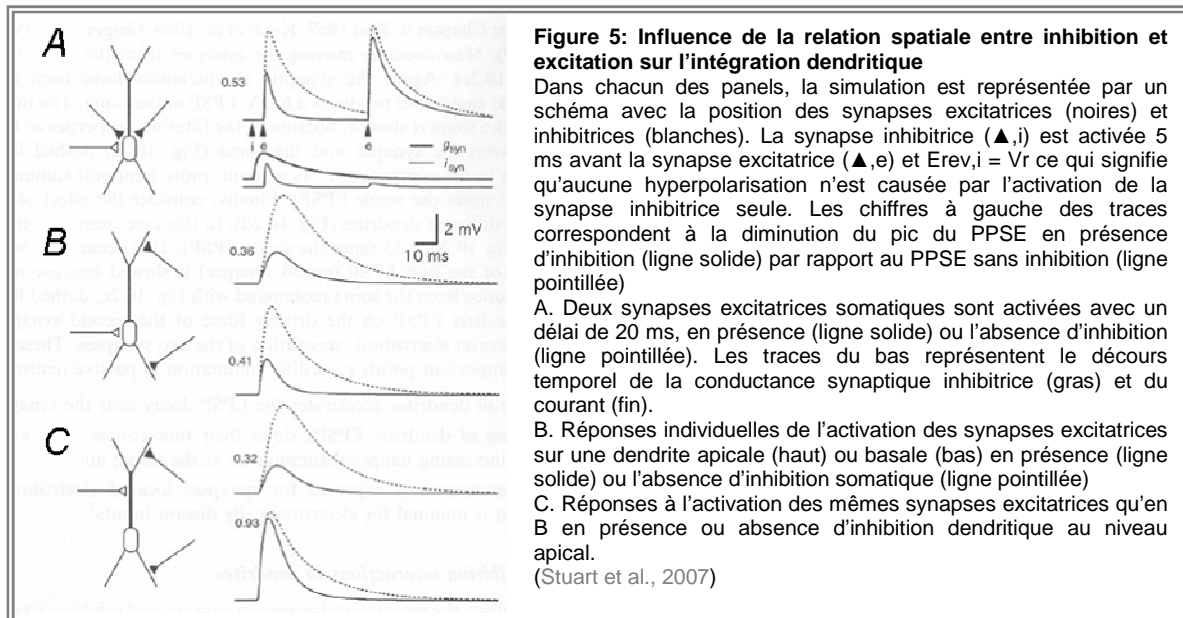
1.2.2. Interaction PPSE/PPSI

L'inhibition est un facteur important dans la limitation de la sommation spatiale et temporelle des entrées synaptiques excitatrices. Les entrées inhibitrices non seulement contrecarrent la dépolarisation excitatrice mais jouent un rôle important dans la précision temporelle des PA. L'inhibition peut synchroniser les PA au sein d'une population de neurones, en raison d'entrées inhibitrices communes à plusieurs cellules permettant une cessation de PA et un retour au seuil synchrones (Cobb et al., 1995). L'inhibition diminue également la fenêtre temporelle de sommation

des PPSE et affecte donc la précision temporelle (Fricker and Miles, 2000; Pouille and Scanziani, 2001).

Les principes gouvernant l'intégration dendritique des PPSI sont les mêmes que ceux des PPSE. Le déroulement temporel d'un PPSI au soma est plus lent si la synapse inhibitrice est localisée dans les dendrites. De plus, les dépolarisations induites par les PPSE ou les hyperpolarisations induites par des PPSI vont affecter d'autant plus la force électromotrice d'autres courants synaptiques inhibiteurs que les synapses sont proches les unes des autres. La figure 5 montre le résultat de l'activation de 2 synapses excitatrices somatiques avec ou sans l'activation au préalable d'une synapse inhibitrice. L'inhibition entraîne une réduction de 35% du premier PPSE et d'environ 13% du second. Dans cette simulation le potentiel d'inversion de l'inhibition est proche de celui du potentiel de repos. Ce cas spécial où l'inhibition survient sans changement du potentiel de membrane est appelé "*inhibition shuntante*", car l'effet de la conductance inhibitrice est similaire à une réduction de R_m , avec un shunt des PPSE sans changement apparent du potentiel de membrane. Le shunt survient car la dépolarisation associée au PPSE augmente la force électromotrice du courant sortant inhibiteur.

La faculté de shunt des synapses inhibitrices sur les courants synaptiques excitateurs dépend de l'arrangement spatial entre les deux entrées (Figure 5B et C). Une inhibition somatique a le même effet sur les PPSE quelle que soit leur localisation dendritique (Figure 5B). En revanche, une inhibition dendritique aura un effet plus important sur les PPSE générés sur la même dendrite (figure 5C).



Le glutamate, principal neurotransmetteur exciteur de l'hippocampe, libéré par la terminaison présynaptique, active les récepteurs postsynaptiques de type AMPA et NMDA. Il en résulte la genèse d'un potentiel postsynaptique exciteur (PPSE) au niveau des dendrites du neurone postsynaptique. La force synaptique exciteur est essentiellement portée par la dépolarisation membranaire rapide

(temps de montée du PPSE : ~4-6 ms ; durée : ~40-50 ms) (Sayer et al., 1990;Debanne et al., 1995) induite par l'activation des récepteurs AMPA. Le PPSE ainsi évoqué se propage le long des dendrites jusqu'au corps cellulaire du neurone et au segment initial de l'axone, où un PA peut être initié si la dépolarisation est assez importante. Au niveau dendritique, la dépolarisation induite par le PPSE-AMPA peut éventuellement permettre l'activation des récepteurs NMDA, entraînant dans ce cas une dépolarisation supplémentaire, plus tardive et plus lente et prolongeant ainsi la durée du PPSE (temps de montée : ~40 ms ; durée : plusieurs centaines de ms) (Lester et al., 1990;Hestrin et al., 1990;Perouansky and Yaari, 1993;Debanne et al., 1995). Une troisième composante synaptique vient compléter ce schéma, la composante inhibitrice supportée par l'activation synchrone des synapses GABAergiques. Le GABA va activer les récepteurs GABA_A et GABA_B postsynaptiques. L'activation des récepteurs GABA_A induit un potentiel hyperpolarisant (PPSI) et une diminution de la résistance de la membrane. La stimulation du *stratum radiatum* induit dans les cellules pyramidales de CA1 un PPSE suivi d'un PPSI-GABA_A rapide et d'un PPSI-GABA_B beaucoup plus lent et tardif. La séquence temporelle de ces événements est principalement due à la nature di- ou polysynaptique de la transmission inhibitrice dans l'hippocampe (Miles and Wong, 1986). De ce fait, la composante inhibitrice du PPSE composite (PPSE+PPSI) n'affecte que très peu la composante précoce du PPSE (phase de montée), mais diminue son amplitude et sa durée. La participation de la composante inhibitrice sur le PPSE tend donc à déprimer le couplage E-S. En effet, l'application d'antagonistes des récepteurs GABA_A (Picrotoxine, PiTX) induit une augmentation du potentiel d'action de population enregistré extracellulairement au niveau de la couche des cellules CA1, sans changement de la pente initiale de la composante synaptique, attestant d'une potentialisation du couplage E-S (Abraham et al., 1987;Chavez-Noriega et al., 1989).

1.2.3. Rôle des canaux ioniques voltage-dépendants

Les dendrites et le corps cellulaires des cellules pyramidales du cortex et de l'hippocampe possèdent un large panel de conductances ioniques voltage-dépendantes (Stuart et al., 2007). L'activation de ces conductances va donc modifier, façonner les PPS au cours de leur transfert le long des dendrites. En fonction de leurs caractéristiques, elles vont être susceptibles soit de les amplifier soit de les atténuer (Reyes, 2001). L'activation de conductances dépolarisantes est susceptible d'amplifier le PPSE alors que l'activation de conductances hyperpolarisantes devrait au contraire l'atténuer.

1.2.3.1. Amplification des PPSE par les conductances intrinsèques

1.2.3.1.1. Courants calcium

Les canaux Ca^{2+} voltage-dépendants produisent un courant entrant relativement lent et augmentent l'excitabilité de la membrane dendritique en prolongeant la durée des PA et en participant à la genèse de trains de PA (Dunlap et al., 1995; Huguenard, 1996; Trimmer and Rhodes, 2004). Des études en imagerie calcique ainsi que différents enregistrements en voltage imposé ont permis d'identifier différents types de canaux calciques (type L : Cav1.2 et 1.3 ; type N : Cav2.2 ; type P/Q : Cav2.1 ; type R : Cav2.3 ; type T : Cav3.1, 3.2 et 3.3) parmi lesquels on distingue des courants à haut seuil d'activation (HVA = high-voltage-activated, types L, N, P/Q et R) et des courants à bas seuil d'activation (LVA = low-voltage-activated, type T). La distinction entre les différents types de canaux se fait en fonction de leur cinétique d'activation et de leur conductance unitaire.

Courant calcique de type T (Cav3.x)

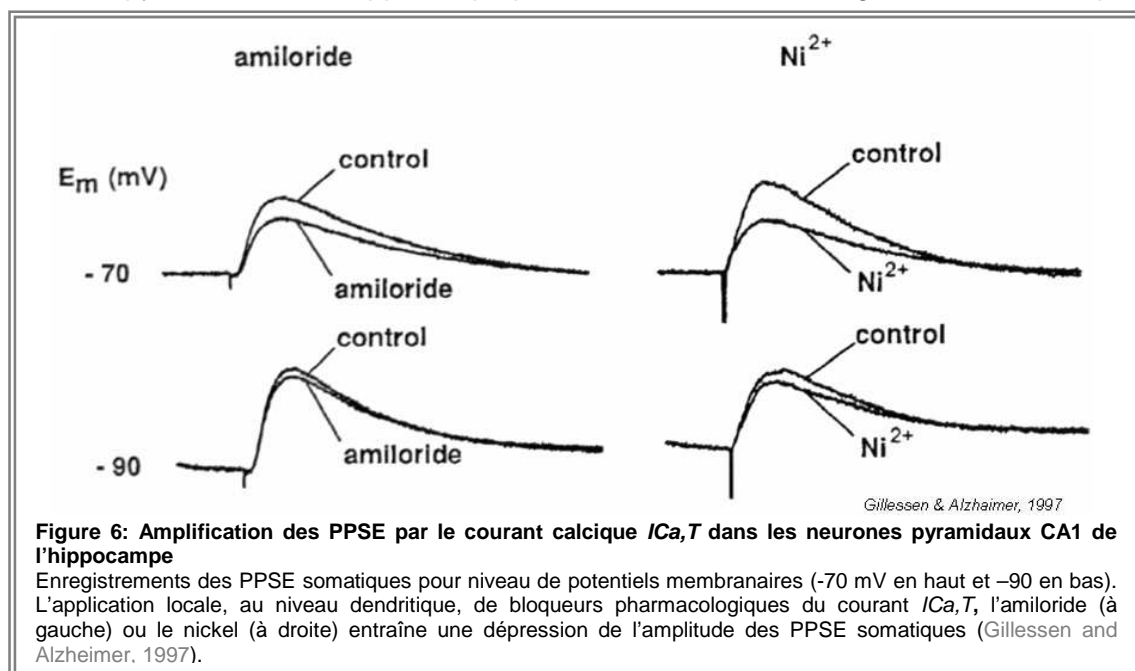
Le courant calcium de type T, I_{CaT} , est largement exprimé dans les dendrites et le soma des cellules pyramidales de l'hippocampe (Magee and Johnston, 1995; Magee et al., 1996; Kavalali et al., 1997b). Le canal correspondant, à bas seuil d'activation LVA (low-voltage-activated) a une faible conductance élémentaire (~ 9 pS) et présente un plus fort ratio de perméabilité $\text{Ca}^{2+}/\text{Ba}^{2+}$ que les autres canaux calciques. Son seuil d'activation se situe vers -70 mV avec une cinétique d'activation plutôt lente (~ 5 ms à 0 mV) et une cinétique d'inactivation rapide (~ 30 ms à -60 mV ; (Kavalali et al., 1997b)). Le courant I_{CaT} reste inactivé si le potentiel de membrane reste à un niveau dépolarisé. La levée de cette inactivation nécessite une hyperpolarisation de 50 à 100 ms du potentiel membranaire. En comparaison avec les autres canaux calciques, les canaux LVA ont une déactivation très lente ($\tau_{\text{deact}} = \sim 5$ ms à -60 mV). Les propriétés du courant T lui confèrent un rôle important dans le mode de décharge des neurones. Le courant T permet à des stimulations synaptiques excitatrices sous-liminaires d'augmenter de manière très localisée la concentration intracellulaire de calcium (Magee and Johnston, 1995). Le signal calcique induit resterait localisé au voisinage des synapses actives et pourrait ainsi être impliqué dans certaines formes de plasticité synaptique des synapses actives.

Le courant I_{CaT} fait parti des conductances ioniques impliquées dans l'amplification des potentiels synaptiques. En 1991, Deisz et collaborateurs ont mis en évidence son rôle dans la dépendance du PPSE vis-à-vis du voltage, dans les cellules pyramidales de la couche II/III du cortex. Une augmentation de l'amplitude et de la durée des PPSE est observée pour des potentiels de repos dépolarisés. A ces potentiels dépolarisés, les PPSE activeraient des canaux sodium ou calcium dépendant du voltage. L'amplification du PPSE n'est ni due à un effet du voltage sur le courant synaptique lui même, qui au contraire diminue avec la dépolarisation, ni à aux récepteurs NMDA

(Deisz et al., 1991). L'effet d'un blocage pharmacologique des courants calciques (Co^{2+} , 2mM) sur des PPSE simulés montre que cette augmentation est principalement due au recrutement d'un courant Ca^{2+} à bas seuil de type T. D'autres études ont confirmé le rôle du courant I_{CaT} dans l'amplification des PPSE. Le blocage pharmacologique de ce courant, par le nickel Ni^{2+} ou l'amiloride, induit une diminution de l'amplitude et de la durée du PPSE sans affecter sa pente initiale dans les cellules pyramidales du cortex (de La Pena E. and Geijo-Barrientos, 2000), de la région CA3 (Urban et al., 1998) ou CA1 de l'hippocampe (Gillesen and Alzheimer, 1997; Isomura et al., 2002) (Figure 6).

Courants calcium de type L, P/Q, N et R (Cav1.2 et 1.3, Cav2.1, Cav2.2, Cav2.3)

Les courants I_L , I_N et I_R sont aussi présents dans les dendrites des neurones pyramidaux de l'hippocampe (Fisher et al., 1990; Magee and Johnston, 1995; Christie et al., 1995; Kavalali et al., 1997a; Kavalali et al., 1997b). Ils se distinguent en fonction de leurs cinétiques et de leurs conductances unitaires (type N ~ 14 pS ; type L ~ 25 pS (Fisher et al., 1990); type R ~ 15/20 pS (Tottene et al., 2000). Malgré leur seuil d'activation très élevé (type N -25 mV ; type L -10 mV (Fisher et al., 1990); type R -40/-50 mV (Foehring et al., 2000; Sochivko et al., 2002), leur rôle dans l'amplification des PPSE a été évoqué dans un article de modélisation (Wathey et al., 1992). La présence de "hot spots" de canaux calcium dépendant du potentiel et non inactivables au niveau des dendrites des pyramidales de l'hippocampe pourrait conduire à une augmentation du couplage E-S.



Modulation

Les canaux Ca^{2+} voltage-dépendants sont des cibles clairement établies pour un grand nombre de molécules (protéines G, kinases, phosphatases, modulateurs lipidiques) (Catterall, 2000; Welsby et al., 2003). Plusieurs neuromodulateurs sont susceptibles d'inhiber les canaux dendritiques Ca^{2+} et l'entrée de Ca^{2+} lors d'un PA (Chen and Lambert, 1997; Kavalali et al., 1997b). Dans ces études,

l'activation des différents récepteurs, récepteurs métabotropiques au glutamate, au GABA_B, à la somatostatine, à la sérotonine et à l'adénosine, réduit le courant calcique HVA et l'influx de Ca²⁺ associé de 12-50% du contrôle. Cette régulation se fait via les protéines G et semblent affecter principalement les canaux dendritiques Cav2.2. Dans les cellules mitrales en culture, la noradrénaline réduit la dépolarisation induite par l'influx dendritique de Ca²⁺ (Bischofberger and Schild, 1995), certainement via son récepteur α_2 et son action inhibitrice des canaux Cav2.2. Par activation des récepteurs β_2 , la noradrénaline augmenterait le courant calcique au travers des canaux Cav1 (I_{CaL}) des dendrites proximales des neurones pyramidaux de CA1. Cette modulation PKA-dépendante est particulièrement importante dans les épines dendritiques, indiquant la présence d'un complexe Cav1, récepteurs β adrénergiques et d'autres molécules régulatrices au sein des compartiments synaptiques (Hoogland and Saggau, 2004). (Tableau 1).

1.2.3.1.2. Courant sodium

Quatre des six sous-unités α des canaux sodiques sont exprimées dans le SNC Nav1.1 : Nav1.2, Nav1.3 et Nav1.6 (pour revue Trimmer and Rhodes, 2004). Les canaux Na⁺ produisent un courant entrant rapide qui augmente l'excitabilité des dendrites, permet la genèse et la propagation de PA et affecte la forme des PPS. Ce courant Na⁺ transitoire dépendant du voltage (I_{NaT}) est très sensible à la tétródotoxine (TTX) (Madeja, 2000). La plupart des canaux sont disponibles et activables au potentiel membranaire de repos et une activation significative est observée pour des dépolarisations d'environ 20 mV. Ces canaux ont des cinétiques d'activation et d'inactivation rapides et possèdent une conductance unitaire d'environ 15 pS. Les propriétés des canaux semblent être identiques le long de l'axe somato-dendritique, à l'exception des neurones pyramidaux de CA1. Dans ces cellules, les canaux Na⁺ somatiques et dendritiques possèdent des niveaux d'inactivation variables. En effet les canaux peuvent entrer dans un état d'inactivation lente pendant quelques secondes (au lieu de quelques ms). La récupération de cette inactivation est plus lente dans les dendrites que dans le soma (Colbert et al., 1997; Mickus et al., 1999). Cette différence entre les canaux somatiques et dendritiques semble résulter d'une différence de niveau de phosphorylation (Colbert and Johnston, 1998). Une deuxième hypothèse serait la présence de deux types de canaux avec des propriétés d'inactivation différentes. En effet il existe des évidences suggérant que les canaux proximaux sont composés de la sous-unité Nav1.1 alors que les canaux plus distaux contiendraient la sous-unité Nav1.3 (Trimmer and Rhodes, 2004). Dans les deux cas, ces différences de cinétique peuvent rendre compte d'une part de l'atténuation des PA dendritiques lors d'un train et d'autre part de la fréquence-dépendance des PA rétropropagés (Spruston et al., 1995; Callaway and Ross, 1995; Tsubokawa and Ross, 1997).

Il est également important de noter la présence d'un courant Na^+ persistant (I_{NaP}), qui s'inactive peu ou pas, dans les neurones pyramidaux du néocortex, de l'hippocampe et cellules de Purkinje (Llinas and Sugimori, 1980a; Stafstrom et al., 1985; French et al., 1990; Schwindt and Crill, 1995; Crill, 1996). Les données actuelles ne permettent pas de conclure sur la correspondance entre les sous-unités et le type de courant (transitoire ou persistant). Certains auteurs formulent l'hypothèse que le courant I_{NaP} reflète un passage en mode non-inactivant du courant I_{NaT} (Alzheimer et al., 1993; Segal and Douglas, 1997). Cependant des travaux plus récents montrent que les courants I_{NaT} et I_{NaP} seraient sous-tendus par des canaux différents (Maurice et al., 2001).

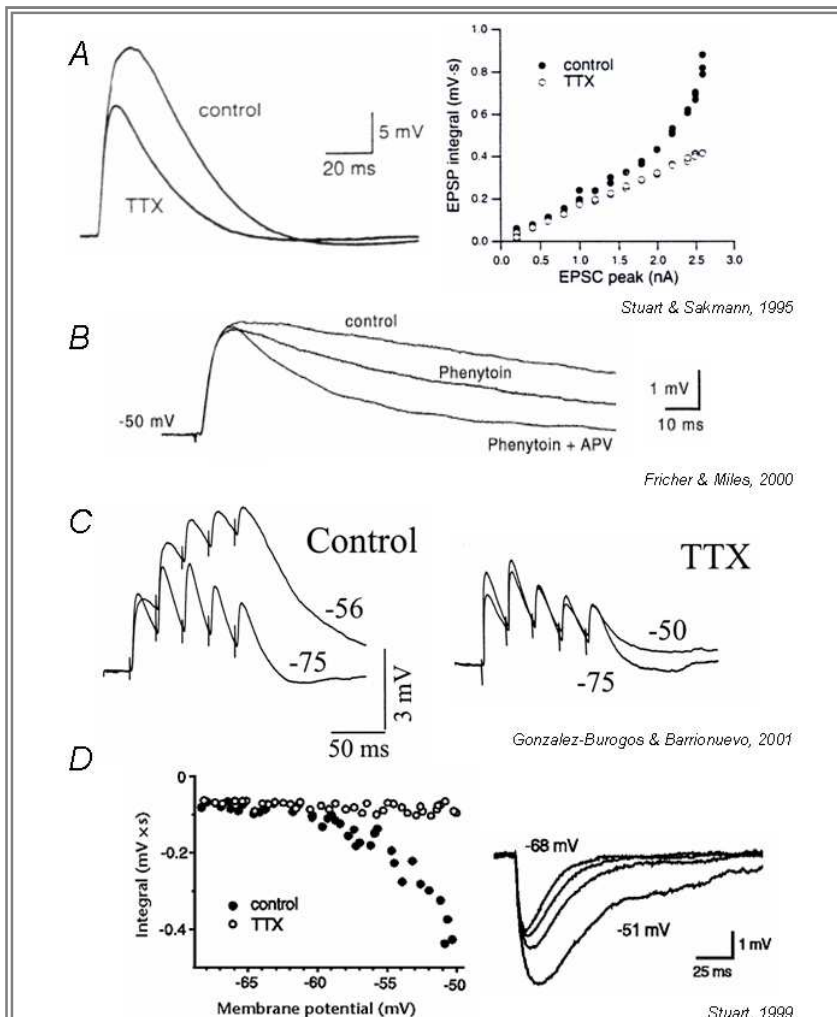


Figure 7: Amplification des PPSE et PPSI par le courant I_{NaP}

A. Le blocage pharmacologique des canaux sodium par la TTX bloque l'amplification sensible à la dépolarisation et linéarise la fonction établie entre l'intégrale des potentiels synaptiques (PPSE) et l'amplitude des courants synaptiques (CPSE) (Stuart and Sakmann, 1995).

B. L'amplification est également bloquée par la phénytoïne, un anti-convulsant bloquant les canaux sodium de type persistant (Fricker and Miles, 2000).

C. Le courant sodium persistant est également impliqué dans l'intégration des événements synaptiques excitateurs en augmentant l'efficacité de la sommation temporelle (Gonzalez-Burgos and Barrionuevo, 2001).

D. Les PPSI enregistrés à un potentiel de repos dépolarisé ont une plus grande amplitude et durée que ceux enregistrés à un potentiel hyperpolarisé (gauche). L'application de TTX bloque cette amplification (droite) (Stuart, 1999).

Le courant I_{NaP} peut être activé à des potentiels membranaires hyperpolarisés par rapport au seuil de déclenchement des PA (seuil d'activation de $I_{\text{NaP}} \sim -60$ mV; (Mittmann and Alzheimer, 1998)), ce qui en fait un candidat idéal à l'amplification des PPSE sous-liminaires au même titre que le courant I_{CaT} . Dans le cortex, des expériences de double enregistrement simultané en patch-clamp ont permis de montrer l'implication de ce courant sur l'amplification des PPSE au niveau somatique (Stuart and Sakmann, 1995; Gonzalez-Burgos and Barrionuevo, 2001) et dendritique (Oviedo and Reyes, 2002) des cellules pyramidales de la couche V. En effet, l'amplitude, l'intégrale et la durée de PPSE simulés augmentent de façon non linéaire par rapport au courant injecté. Cette relation de non linéarité est plus importante au niveau de

l'enregistrement somatique suggérant que le site de l'amplification des PPSE soit plutôt proche du soma (Stuart and Sakmann, 1995; Gonzalez-Burgos and Barrionuevo, 2001) (Figure 7A et 7C), là où

l'application est maximale. Cette amplification est bloquée par l'application de TTX (0.5 ou 1 μ M). La TTX provoque une réduction d'amplitude des grands PPSE (> 5 mV) et linéarise la relation entre l'amplitude ou l'intégrale des PPSE somatiques et la taille des courants injectés. L'effet de la TTX est cependant plus important sur l'intégrale que sur l'amplitude. L'application de TTX bloque également l'amplification des petits PPSE (< 5 mV) somatiques évoqués à des potentiels dépolarisés. Cette amplification par le courant I_{NaP} semble n'intervenir qu'après le 28^{ème} jour post-natal. Avant ce stade, c'est le courant I_{CaT} qui est majoritairement impliqué dans l'amplification des PPSE (Deisz et al., 1991; Stuart and Sakmann, 1995). Au niveau des cellules pyramidales de CA1, il a été montré par Hu et collaborateurs que le PA évoqué par la stimulation synaptique est toujours précédé d'un pré-potentiel d'amplitude comprise entre 1 et 6 mV dont l'action dépolarisante est dépendante du potentiel de membrane et qui affecte le déroulement temporel de la décharge des PA (Hu et al., 1992). Il est sensible au QX-314, un dérivé de la lidocaïne, et insensible au D-AP5, un antagoniste des récepteurs NMDA. Ces résultats suggèrent que ce pré-potentiel résulte de l'activation d'un courant sodium dépendant du potentiel et principalement présent au niveau dendritique. Plus récemment, il a été mis en évidence une amplification des PPSE due à l'activation d'un courant dépolarisant sensible à la TTX (0.5-10 μ M) au niveau dendritique (Lipowsky et al., 1996) ou somatique (Andreasen and Lambert, 1999) et sensible à la phénitoïne (100-200 μ M ; (Fricker and Miles, 2000) (Figure 7B), un bloqueur du courant I_{NaP} , au niveau périsonotique. Ces résultats indiquent que les régions périsonotique et dendritique des pyramidales CA1 peuvent fonctionner comme des amplificateurs des PPSE évoqués au niveau de synapses distales grâce à l'activation d'un courant I_{NaP} somatique et dendritique. Cependant cette localisation somato-dendritique du courant I_{NaP} a été remise en cause par une étude récente réalisée dans les neurones pyramidaux de la couche V du néocortex, plaçant le courant I_{NaP} dans la région proximal de l'axone (Astman et al., 2006). Dans les neurones pyramidaux de la couche V du néocortex, les PPSI enregistrés à un potentiel de repos dépolarisé sont de plus grande amplitude et durée que ceux enregistrés à un potentiel plus hyperpolarisé (Stuart, 1999) (Figure 7D). Fonctionnellement, cette amplification joue un rôle dans la capacité des PPSI à inhiber la décharge temporelle et permet une synchronisation temporelle des PA (Stuart, 1999).

Modulation

Les canaux Na^+ peuvent être modulés par différentes kinases et protéines G qui produisent généralement un changement des propriétés voltage-dépendantes (Cantrell et al., 2002). La forme de régulation la plus courante est une régulation par les neuromodulateurs tels que la DA, l'Ach ou la 5-HT qui résulte en une altération des propriétés d'inactivation via la PKA ou la PKC, aboutissant à une réduction de la quantité de courant Na^+ somatique (Cantrell et al., 1996; Cantrell and Catterall, 2001; Carr et al., 2003). Une étude récente dans les neurones pyramidaux du cortex préfrontal, montre que l'activation spécifique des récepteurs D_1 par le SKF81297 atténue les EPSP simulés

induit par l'injection de courant et diminue la sommation temporelle d'un train de PPSE à 20Hz (Rotaru et al., 2007). L'application de TTX abolit l'effet du SKF81297 sur l'amplification des PPSE suggérant un effet direct des récepteurs D_1 sur le courant Na^+ et par conséquent l'intégration. Une seconde étude concernant les récepteurs D_2 montre un effet opposé de leur activation sur le courant Na^+ et par conséquent sur l'intégration. En effet, dans les neurones de la couche V du cortex entorhinal courant Na^+ est augmenté à la suite de l'activation des récepteurs D_2 à la dopamine, amplifiant ainsi l'intégration les entrées en provenance de l'*amygdala* (Rosenkranz and Johnston, 2007). Une régulation du courant Na^+ par la CaMKII a également été décrite dans les cellules en grain du cervelet (Carlier et al., 2000) et les pyramidales de CA1 (Xu et al., 2005). Plus largement, une inhibition non spécifique des kinases dendritiques entraîne une augmentation de l'activation des canaux Na^+ résultant d'une hyperpolarisation de la courbe d'activation dans les dendrites des neurones de CA1 (Gasparini and Magee, 2002). Récemment il a été mis en évidence une régulation différentielle entre les courant I_{NaT} et I_{NaP} par les récepteurs mGluR1 et un mécanisme PKC-dépendant. En effet l'activation des mGluR1 dans les neurones pyramidaux dissociés ou de la couche V (en tranche) réduit I_{NaT} alors que I_{NaP} est facilité (Carlier et al., 2006). (Tableau 1).

1.2.3.2. Atténuation des PPSE par les conductances intrinsèques

1.2.3.2.1. Courants potassiques

Les canaux potassiques représentent la famille de canaux ioniques la plus large et la plus diversifiée, avec à ce jour plus de 80 gènes codant pour la sous-unité α dans le génome humain. En effet on peut distinguer les canaux à six/sept segments transmembranaires comprenant les canaux dépendant du voltage ($Kv1$ - $Kv12$) (Storm, 1990; Jan and Jan, 1997; Mathie et al., 1998; Trimmer and Rhodes, 2004; Gutman et al., 2005), du calcium intracellulaire (K_{Ca}), les canaux à deux segments transmembranaires (Kir) (pour revue Bichet et al., 2003) et les canaux à quatre segments transmembranaire (K_{2P}) (Patel and Honore, 2001; Goldstein et al., 2001). Les canaux potassiques sont les régulateurs principaux de l'excitabilité neuronale que ce soit au niveau dendritique ou somato-axonal. Nous ne détaillerons ici que les canaux K^+ dépendant du voltage (Kv) et ceux dépendant du calcium intracellulaire (K_{Ca}).

Courant K^+ voltage-dépendant

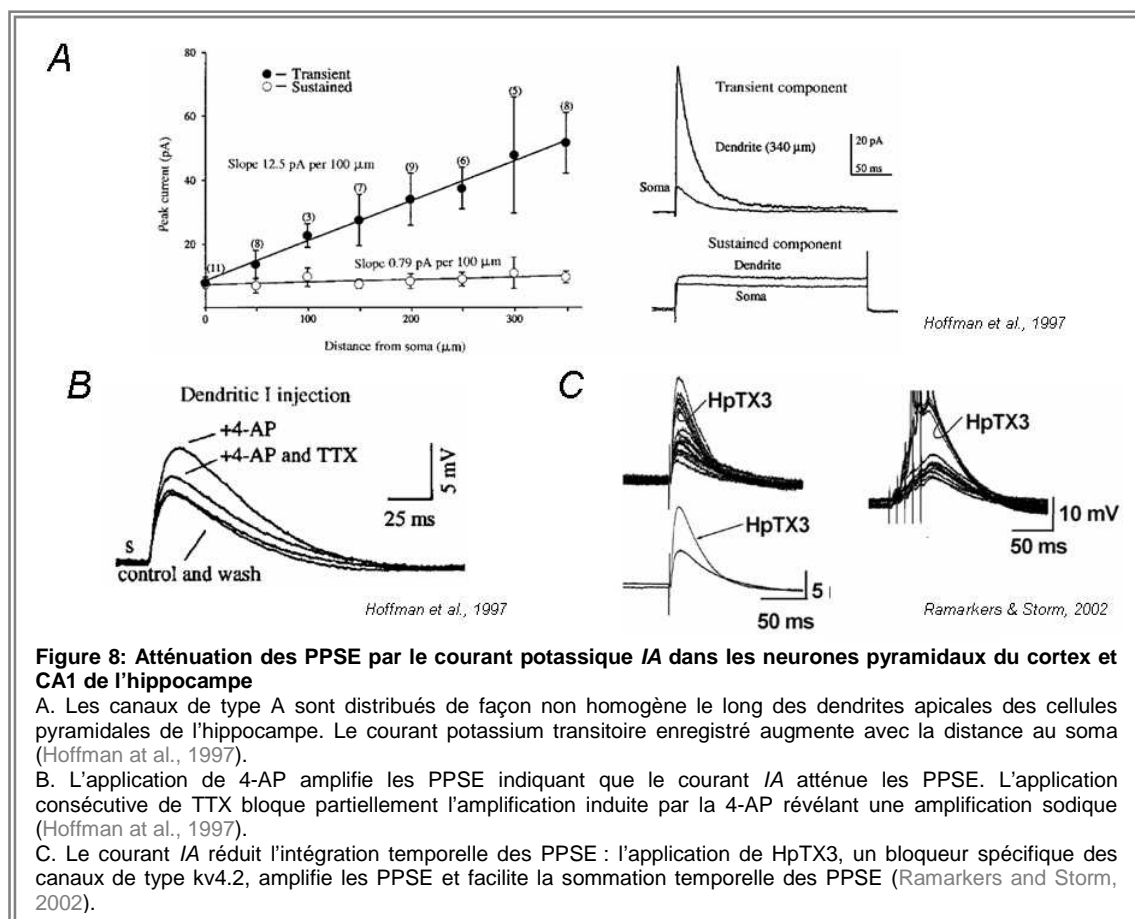
Type transitoire (Kv1.1, 1.3, 1.4 ; Kv3.3, 3.4 ; Kv4.2, 4.3)

Des enregistrements dendritiques en potentiel imposé des neurones pyramidaux de CA1 de l'hippocampe, de la couche V du néocortex, ainsi que des cellules Purkinje du cervelet ont montré la présence de larges courants sortants avec des cinétiques rapides d'activation ($\tau_{act} = 1-3$ ms), de désactivation ($\tau_{deact} < 3$ ms) et d'inactivation ($\tau_{inact} = 10-20$ ms) (Hoffman et al., 1997; Martina et al., 1998; Bekkers, 2000; Korngreen and Sakmann, 2000; Martina et al., 2003; Chen and Johnston, 2004). Ces courants sont activés par des dépolarisations minimales, voisines de -40/-50 mV, et une large fraction des canaux est disponible au potentiel de repos (~ 60% dans les pyramides de CA1 et >90% des cellules de Purkinje (Hoffman et al., 1997; Martina et al., 2003; Chen and Johnston, 2004)). Ainsi, ce courant, largement activé lors de la génération d'un PA, ne s'active que transitoirement pour des dépolarisations sous-liminales plus modérées. Par exemple, l'hyperpolarisation consécutive au PA (ou AHP) lève l'inactivation des canaux. Le courant transitoire sortant résultant de l'ouverture des canaux K^+ ralentit le retour du potentiel vers le potentiel de repos et l'éloigne du seuil de déclenchement du PA suite à l'AHP. Il en résulte un allongement de l'intervalle entre deux PA consécutifs. Ce courant participe également à la repolarisation du PA (Bekkers, 2000). Les neurones pyramidaux possèdent également une faible mais significative densité de courant montrant une activation rapide similaire mais une inactivation lente ($\tau_{inact} = \sim 100$ ms) (Storm, 1987; Golding et al., 1999; Bekkers and Delaney, 2001). Cette composante à inactivation lente est également sensible à la dendrotoxine (et à une faible concentration 4-AP μM) et correspondrait au courant I_D des canaux Kv1 (Martina et al., 1998; Bekkers and Delaney, 2001; Shu et al., 2007). Dans les dendrites des pyramides de CA1, la majorité du courant transitoire K^+ correspond au profil pharmacologique (sensibilité plus importante à la 4-AP qu'au TEA, pas d'effet de l' H_2O_2) du courant I_A porté par les sous-unités Kv4 (Hoffman et al., 1997) avec une concentration importante au niveau des épines dendritiques (Petrecca et al., 2000) et une densité croissante du soma vers les dendrites distales (Hoffman et al., 1997) (Figure 8A). Ces canaux préviennent l'initiation de PA sodiques dans les dendrites et imposent une polarité fonctionnelle au neurone, limitent la rétropropagation des PA dans les dendrites, atténuent les événements synaptiques excitateurs et régulent la sommation des PPSE (Hoffman et al., 1997; Ramakers and Storm, 2002). En effet, le courant I_A agit en réduisant les fortes et rapides dépolarisations membranaires, jouant le rôle d'absorbeur de choc dendritique (Yuste, 1997) et régulant ainsi la propagation des potentiels synaptiques. La haute densité en canaux dans les dendrites des cellules pyramidales de CA1 a des effets non négligeables sur les événements synaptiques excitateurs sous-liminaires. En effet, l'application de 4-AP augmente l'amplitude, le temps de montée au pic et la durée des PPSE induits par une injection dendritique du courant (Hoffman et al., 1997) avec un effet similaire pour les dendrites et le soma (Figure 8B). La 4-AP transforme les PPSE sous-liminaires en PPSE capables de déclencher des trains de PA (Hoffman et al., 1997; Gonzalez-Burgos and Barrionuevo, 2001). L'application de TTX (300-500nM) en plus de la

4-AP révèle qu'une large proportion de la dépolarisation induite par la 4-AP est due à l'activation de canaux sodium (Hoffman et al., 1997; Andreassen and Lambert, 1999). L'application de 4-AP agit donc en fait en démasquant une amplification sodique. Ainsi, le courant I_A agit en opposition au courant entrant induit par l'activation des canaux sodium, masquant en grande partie l'amplification sodique et réduisant l'excitabilité neuronale.

Le courant I_A est activé par une dépolarisation synaptique et régule l'intégration dendro-somatique de trains à haute fréquence d'entrées synaptiques. En effet l'application de HpTX3 (heteropodatoxin-3), bloqueur spécifique des Kv4.2 issu du venin d'araignée, amplifie les PPSE et facilite leur sommation temporelle (Ramakers and Storm, 2002) (Figure 8C). L'acide arachidonique (AA) qui peut être libéré indirectement par l'activation de telles entrées, augmente l'efficacité synaptique en supprimant le courant I_A . Ce mécanisme pourrait jouer un rôle important dans la plasticité synaptique dépendante de la fréquence dans l'hippocampe (Ramakers and Storm, 2002).

En revanche le courant transitoire K^+ des dendrites des cellules de Purkinje présente un profil pharmacologique différent, sensibilité équivalente pour de faible concentration de TEA et 4-AP, ce qui correspond aux sous-unités Kv3 (Martina et al., 2003).

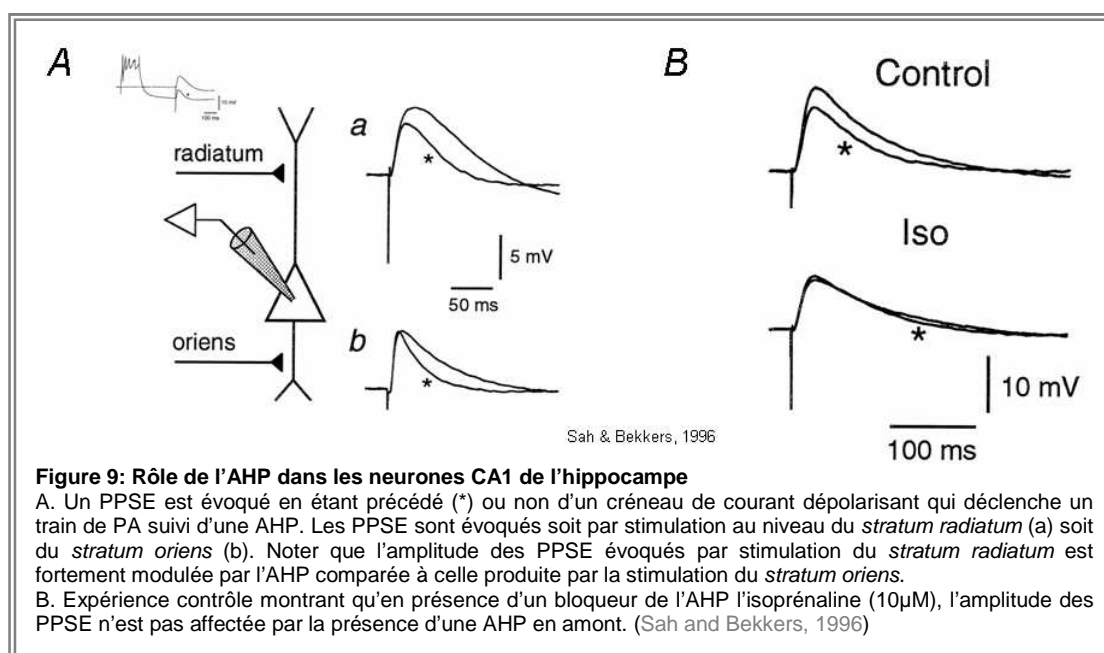


Type soutenu (Kv1.2, 1.5 ; Kv2.1, Kv2.2; Kv3.1, 3.2 KCNQ (Kv7.x))

Un autre type de courant sortant, répandu dans les dendrites, est un courant soutenu qui s'active plus lentement ($\tau_{act} > 2$ ms) et ne montre qu'une faible voltage-dépendance pour son inactivation (τ_{inact} = 100aines de ms – secondes) (Hoffman et al., 1997; Bischofberger and Jonas, 1997; Martina et al., 1998; Bekkers, 2000; Martina et al., 2003; Chen and Johnston, 2004). Dans les pyramides de CA1, les courbes activation et d'inactivation indiquent qu'une dépolarisation de plus 40 mV est nécessaire pour activer ce courant (Hoffman et al., 1997). Dans les dendrites de ces mêmes cellules, cette composante du courant K^+ présente une voltage dépendance et des propriétés pharmacologiques (sensibilité plus importante au TEA qu'à la 4-AP) plus proches de celles du courant K^+ rectifiant retardé porté par les sous-unités Kv2 (Hoffman et al., 1997; Martina et al., 1998). Les dendrites semblent également contenir des canaux non inactivables, sensibles à l'activation des récepteurs muscariniques, indiquant donc la présence d'un courant K^+ de type M porté par les canaux KCNQ (Chen and Johnston, 2004).

Courant K^+ calcium-dépendant

Il existe au moins 3 types de canaux K_{Ca} différents qui ont été bien caractérisés du moins au niveau somatique (Storm, 1987; Sah, 1996; Marrion and Tavalin, 1998). Le premier est un canal à large conductance (100-400 pS ; BK ou K_{Ca1}) possédant une importante dépendance au voltage et une faible sensibilité au calcium (0.6-10 μ M) via un capteur calcique intégré au canal lui-même. Il semblerait que la plupart des arborisations dendritiques contienne ce type de canal à large conductance (Sah and Bekkers, 1996; Poolos and Johnston, 1999; Womack and Khodakhah, 2004; Benhassine and Berger, 2005). Le second, de petite conductance (5-20 pS ; SK ou K_{Ca2}) possède une faible dépendance au voltage mais est plus sensible au calcium (100-600 nM). Ici, la sensibilité au calcium fait intervenir un partenaire moléculaire sensible au Ca^{2+} , la calmoduline. Bien qu'il n'y ait pas encore eu d'enregistrements dans les dendrites, un certain nombre d'évidences suggèrent leur présence (Womack and Khodakhah, 2004; Cai et al., 2004). Enfin le troisième type de courant (I_{AHP}) (le canal n'étant pas encore identifié) présente une faible conductance unitaire (3-7 pS) et est activé pour de faible concentration en calcium (200 nM, avec comme capteur au calcium, identifié très récemment, l'hippocacine (Tzingounis et al 2007)). Le dérouls temporel de chacun des ces courants est très variable, le courant I_{BK} est le plus transitoire, puis viennent les courant I_{SK} et I_{AHP} . Les canaux BK sont sensibles aux charybdotoxines, à l'ibérottoxine et à une faible concentration de TEA, alors que les SK sont bloqués par l'apamine. I_{AHP} n'est pas bloqué par l'apamine mais est inhibé par une forte concentration de TEA et des neuromodulateurs tel que la noradrénaline.



Les courants K^+ dépendant du calcium sont impliqués dans la repolarisation du PA, la détermination de la durée de l'hyperpolarisation consécutive à un PA (ou AHP) et le phénomène d'adaptation de la fréquence de décharge. Comparativement aux courants K^+ voltage-dépendants, les courants $K^+ Ca^{2+}$ -dépendants ont été beaucoup moins étudiés au sein des dendrites des neurones centraux (voir cependant Andreasen and Lambert, 1995; Sah and Bekkers, 1996; Schwindt and Crill, 1997; Benhassine and Berger, 2005), où ils peuvent jouer un rôle de "shunt" des PPS (Sah and Bekkers, 1996; Cangiano et al., 2002; Cai et al., 2004) (Figure 9). Au niveau des épines dendritiques des neurones de l'*amygdala* et de CA1 de l'hippocampe, il existe une étroite relation entre les canaux SK et les récepteurs NMDA : l'influx de calcium via les récepteurs NMDA peut activer les canaux SK créant ainsi un shunt local atténuant le PPSE résultant (Faber et al., 2005). Il est important de noter que cette réduction des PPSE par l'activation des canaux SK favorise le reblocage des récepteurs NMDA par le Mg^{2+} (Ngo-Anh et al., 2005). Etant donné le rôle des récepteurs NMDA dans l'induction de la plasticité synaptique (voir §1.3.3.), il est alors très probable que les canaux SK interagissent avec ce phénomène de plasticité. En effet le blocage des canaux SK par l'apamine entraîne une augmentation de la LTP de la transmission synaptique dans l'hippocampe (Behnisch and Reymann, 1998; Stackman et al., 2002) et l'*amygdala* (Faber et al., 2005). Inversement la surexpression des canaux SK diminue la LTP et altère les tâches d'apprentissage mettant en jeu l'hippocampe et l'*amygdala* (Hammond et al., 2006).

Modulation

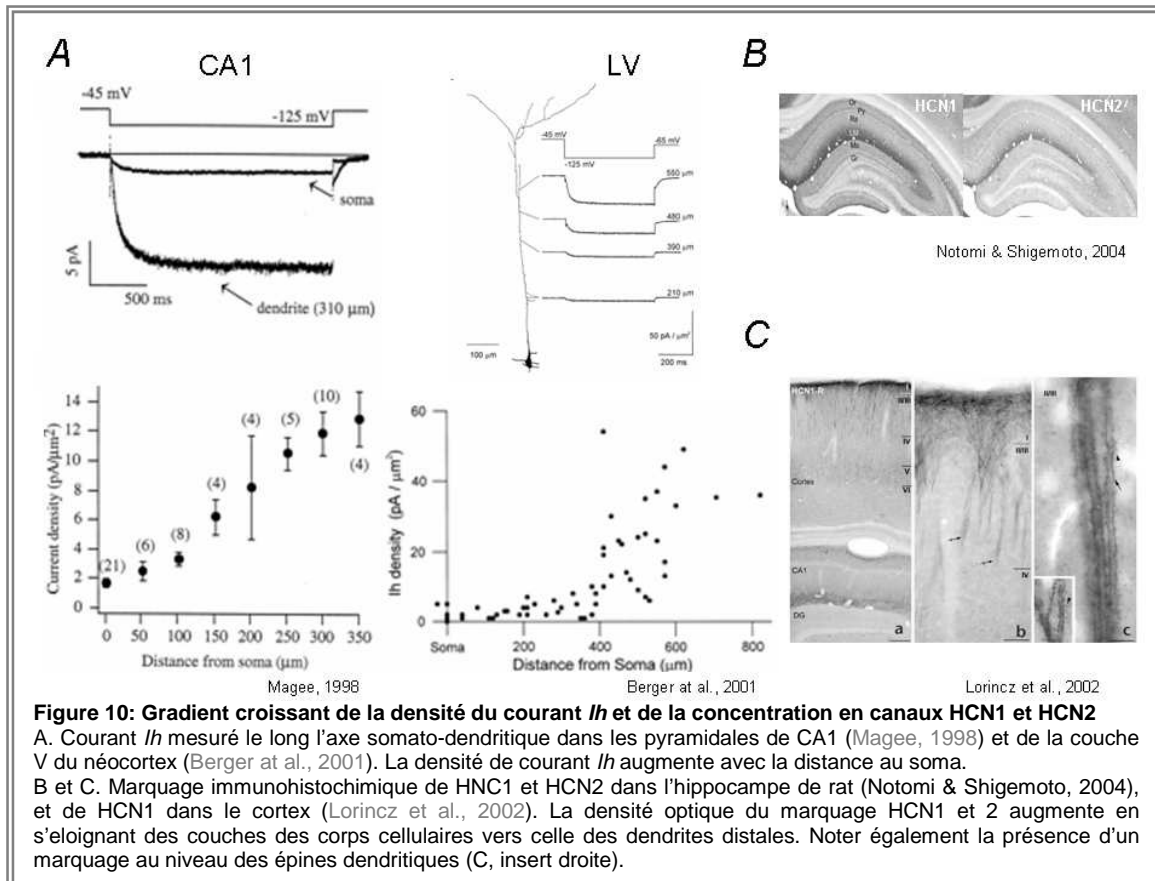
Les sous-unités des canaux K^+ contiennent un grand nombre de sites potentiels de phosphorylation. Kv4.2 contient notamment des sites de phosphorylation par la PKA, PKC, CaM Kinases et MAP Kinases (Baldwin et al., 1991; Schrader et al., 2002; Yuan et al., 2002; Varga et al., 2004). L'activation des PKA et PKC par des neuromodulateurs (β adrénergique, dopaminergique, muscarinique) induit

un déplacement de l'activation vers des valeurs plus dépolarisées (~15 mV) et augmente l'amplitude des PA dendritiques (Hoffman and Johnston, 1998; Hoffman and Johnston, 1999). Les courants potassiques transitoires et soutenus des neurones pyramidaux sont modulés par des messagers lipidiques comme l'acide arachidonique (AA) et les prostaglandines (PGE2) (Ramakers and Storm, 2002; Chen et al., 2002; Oliver et al., 2004). De par la présence de tels canaux modulables à leur membrane, les neurones pyramidaux de CA1 ont la possibilité de changer leur excitabilité. (Tableau 1). Tous ces différents canaux K⁺ sont modifiés par l'activité (cf. §1.4.).

1.2.3.2.2. Courant H

Le courant I_h (pour revue Pape, 1996; Robinson and Siegelbaum, 2003) a été décrit pour la première fois dans des cellules du nœud sinusal du cœur (Noma and Irisawa, 1976). Dénommé alors I_f (pour funny) en raison des propriétés biophysiques particulières, il sera par la suite retrouvé dans d'autres cellules cardiaque, dans le système nerveux central et périphérique, dans des cellules sensorielles et des cellules endocrines et exocrines (Robinson and Siegelbaum, 2003). Dans le SNC, le courant I_h contribue à de nombreuses propriétés physiologiques et fonctions telles que l'activité "pacemaker" de certains neurones, le contrôle du potentiel membranaire et l'intégration dendritique des entrées synaptiques.

Chez les mammifères, quatre isoformes de la même famille de gènes codant pour les canaux HCN (*Hyperpolarization-activated and Cyclic Nucleotide-sensitive gated nonselective cation channel*; HCN1-4), responsable du courant I_h , ont été clonées (Ludwig et al., 1998; Santoro et al., 1998). Les sous-unités HCN appartiennent à la superfamille des canaux potassiques, comprenant 6 domaines transmembranaires (S1 à S6) et un élément P nécessaire à la formation du pore entre S5 et S6. La région C-terminale comporte un domaine sensible aux nucléotides cycliques (domaine CNBD pour *cyclic nucleotide binding domain*) et un site putatif de phosphorylation par la PKA dans le CNBD (Monteggia et al., 2000). Le canal est formé par l'association 4 de sous-unités qui vont alors déterminer ses propriétés biophysiques ainsi que sa sensibilité aux nucléotides cycliques. Dans les cellules pyramidales CA1 de l'hippocampe, les sous-unités HCN1 et HCN2 sont prédominantes (Monteggia et al., 2000; Notomi and Shigemoto, 2004). Comme pour les canaux de type A, les canaux HCN n'ont pas une distribution uniforme. La densité des canaux augmente d'un facteur 7 du soma aux dendrites distales (Magee, 1998; Williams and Stuart, 2000b; Lorincz et al., 2002) (Figure 10). Une étude récente a montré que dans les pyramidales de CA1 l'enrichissement de HCN1 dans les dendrites distales et son maintien nécessite l'activation des récepteurs ionotropiques au glutamate par les projections excitatrices de la voie perforante via un mécanisme CaMKII-dépendant (Shin and Chetkovich, 2007).



I_h est un courant entrant, de conductance mixte Na^+ et K^+ (E_{inv} compris entre -50 et -10 mV), activé par l'hyperpolarisation à activation et déactivation lente (τ_{act} et τ_{deact} = 10aine de ms à 35°C) qui ne s'inactive pas. Sa courbe d'activation montre qu'une fraction de I_h est déjà activée au voisinage du potentiel de repos (~25%).

Le courant I_h est souvent distingué pharmacologiquement des autres courants K^+ par sa sensibilité pour de faible concentrations de Cs^+ extracellulaire (1-3mM) et son insensibilité au Ba^+ extracellulaire 1-2mM (cependant voir van Welie et al., 2005), un bloqueur des canaux K^+ entrant rectifiant. Cependant si le Cs^+ a l'inconvénient de bloquer également d'autres conductances potassiques, il a l'avantage d'être lavable et donc d'avoir un effet réversible. Un certain nombre de composés organiques ont été décrits comme bloqueur relativement spécifique de I_h : le ZD-7288 (Gasparini and DiFrancesco, 1997; Shin et al., 2001), l'UL-FS49 ou zatebradine (Goethals et al., 1993; DiFrancesco, 1994) et S-16257 ou ivabradine (Bois et al., 1996). Toutefois l'UL-FS49 bloque également des canaux K^+ (Bois et al., 1996; Satoh and Yamada, 2002) et le ZD-7288 ainsi que le DK-AH269 (qui est structuellement similaire à l'UL-FS49) altèrent la transmission synaptique indépendamment de son effet sur I_h (Chevalayre and Castillo, 2002).

Le courant I_h est impliqué dans plusieurs fonctions physiologiques (Robinson and Siegelbaum, 2003) : le contrôle de l'activité rythmique dans le cœur et le SNC (Luthi et al., 1998; Robinson et al., 2006), la définition du potentiel de repos, la participation à la résistance de membrane, l'intégration

dendritique (Magee, 1998;Stuart and Spruston, 1998;Magee, 1999;Williams and Stuart, 2000a;Williams et al., 2002;Nolan et al., 2003;Nolan et al., 2004), la régulation de la transmission synaptique (Southan et al., 2000;Lupica et al., 2001;Yasui et al., 2005;Aponte et al., 2006), le soutien à haute fréquence de décharge dans les axones (Soleng et al., 2003;Bender et al., 2005;Lujan et al., 2005;Aponte et al., 2006). Nous ne rapportons ici plus précisément que 3 mécanismes impliquant I_h : la génération de rythme, la définition du potentiel de repos et de la résistance membranaire, et la participation à l'intégration dendritique.

I_h un courant pacemaker

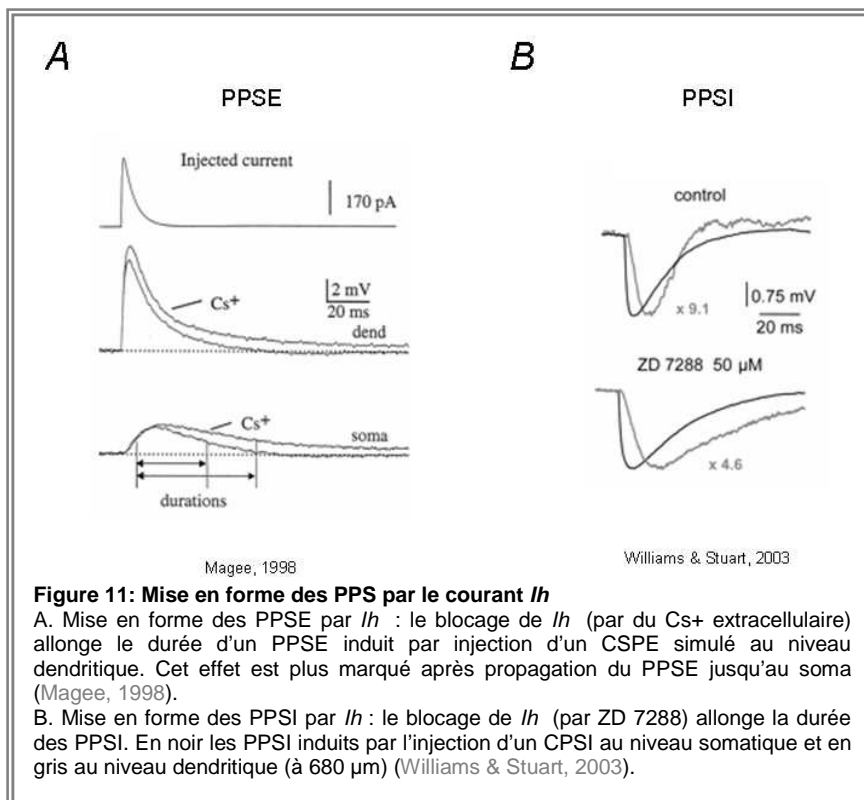
Le courant I_h est impliqué dans la génération de rythme dans plusieurs systèmes neuronaux. Il joue un rôle dans les oscillations de trois manières (Robinson and Siegelbaum, 2003) : i) en imposant un mode de décharge régulier et spontané, ii) en facilitant le couplage entre l'activité spontanée de la cellule et des entrées synaptiques rythmiques et iii) en étant à l'origine d'oscillations subliminaires.

Exemple des cellules du relais thalamocortical. La génération spontanée de rythme a été particulièrement bien décrite dans le cas des cellules relais thalamocorticales. Associées aux ondes lentes du sommeil ou en conditions pathologiques (crises de type absence), des oscillations synchronisées apparaissent spontanément dans le système thalamocortical. Ces oscillations ne cessent plus si on bloque le courant I_h (Bal and McCormick, 1996). Quand ces cellules sont isolées pharmacologiquement, elles déchargent par bouffées à une fréquence entre 0.5 et 4 Hz. L'activation de I_{CaT} initie un PA calcique qui provoque à son sommet une bouffée de PA sodiques rapides. L'inactivation de I_{CaT} arrête les décharges. La repolarisation qui suit active le courant I_h qui définit la vitesse de repolarisation jusqu'au seuil d'activation de I_{CaT} dont l'inactivation a été levée par l'hyperpolarisation. La régularité de l'oscillation intrinsèque dépend de cette phase de repolarisation conduite par I_h (McCormick and Bal, 1997). L'accélération du courant I_h , par l'AMPc par exemple, accélère la fréquence (Pape, 1996;Luthi et al., 1998).

I_h contrôle le potentiel de repos et la résistance membranaire

Le courant I_h participe à la définition du potentiel de repos car sa courbe d'activation indique qu'une fraction du courant est activé au potentiel de repos (Dickson et al., 2000). En effet, le blocage du courant I_h par du ZD7288 ou par du Cs^+ extracellulaire, hyperpolarise le potentiel de membrane de membrane des pyramidales de CA1 (Maccaferri et al., 1993;Gasparini and DiFrancesco, 1997), éloignant celui-ci du seuil de déclenchement du PA et par la-même réduisant l'excitabilité neuronale. La dépolarisation du potentiel de membrane provoqué par I_h augmente l'excitabilité des cellules, non seulement en réponse à l'excitation (Lupica et al., 2001), mais aussi en réponse à l'inhibition car il facilite l'apparition de décharges en rebond suite à l'hyperpolarisation des PPSI (Brewster et al., 2002). En effet, I_h se comporte comme un tampon de voltage et tend à stabiliser le potentiel de membrane au voisinage du potentiel de repos.

Dans certains cas, l'hyperpolarisation du potentiel de membrane et l'augmentation de la résistance membranaire consécutive à un blocage des courants I_h sont les seuls indices électrophysiologiques de la présence de canaux HCN fonctionnels (Aponte et al., 2006; Râteau and Ropert, 2006).



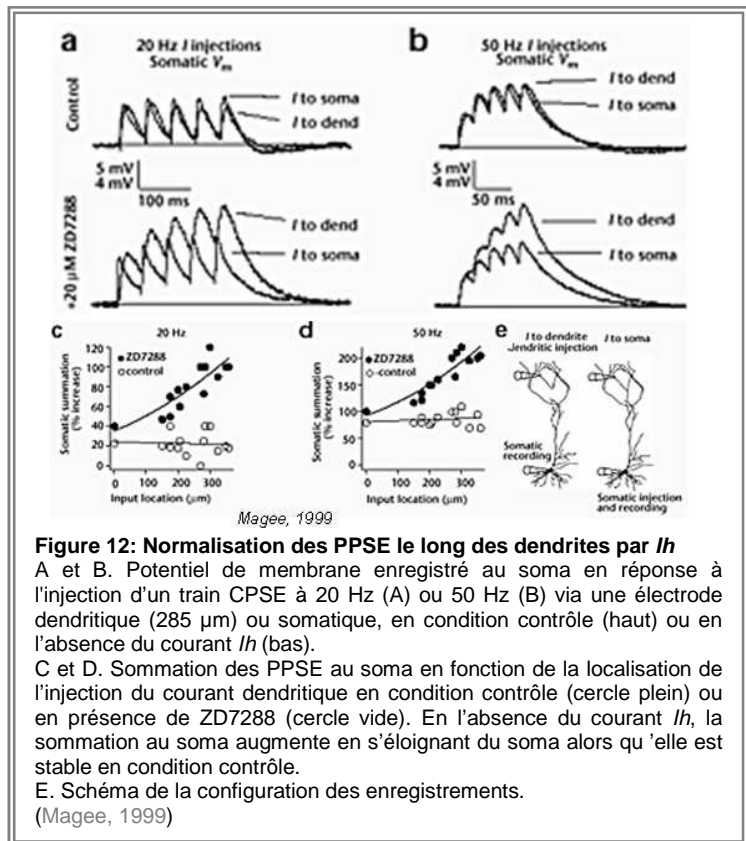
I_h , intégration dendritique et sommation temporelle

La présence d'une conductance I_h amortit tout changement de potentiel de membrane infraliminaire : une hyperpolarisation comme un PPSI ou une dépolarisation comme un PPSE sera contrecarrée respectivement par une activation accrue du courant I_h ou une désactivation du courant I_h "de repos". La présence de courant I_h atténue l'amplitude des PPS et accélère leur déroulement temporel.

Précédemment, nous avons décrit la distribution particulière des canaux HCN le long de l'axe somato-dendritique des cellules pyramidales de CA1 et de la couche V. Cette distribution particulière permet une normalisation du déroulement temporel des PPSE dans les cellules pyramidales de CA1 (Magee, 1998) (Figure 11A) et de la couche V (Williams and Stuart, 2000b; Berger et al., 2001) et une normalisation du déroulement temporel des PPSI des pyramidales de la couche V (Williams and Stuart, 2000b) (Figure 11B). En effet, avec les seules propriétés passives de membrane, on sait que plus les PPSE et PPSI sont initiés loin du soma plus leur forme est filtrée à leur arrivée au soma. Le courant I_h permet une normalisation en accélérant d'autant plus les PPS qu'ils sont générés loin du soma. Ainsi, il existe une indépendance entre le lieu d'initiation des PPSE/PPSI et leurs déroulements temporels une fois arrivés au soma. L'intérêt informationnel de cette normalisation est particulièrement visible dans le cas de séries de PPSE.

Les sommations spatiale et temporelle permettent d'augmenter la dépolarisation induite par des PPSE isolés. Le courant I_h intervient dans la forme des PPSE, du moins dans les pyramidales de la couche V (Nicoll & al 1993), en diminuant le temps de montée au pic et la durée et en induisant une hyperpolarisation dépassant le potentiel de repos lors de la repolarisation des PPSE distaux. Ces effets peuvent aboutir à une réduction de l'intégration temporelle des événements distaux et à un accroissement de l'efficacité des événements non sommés au niveau du soma (Nicoll et al., 1993).

L'injection d'un train à 20 Hz de courant simulant des PPSE dans les dendrites des neurones pyramidaux de l'hippocampe (Magee, 1999) et du néocortex (Williams and Stuart, 2000b) induit un train de PPSE ne montrant pas de sommation temporelle significative au soma (Figure 12). En présence de césium ou de ZD7288, l'amplitude et la durée de ce train sont augmentées, ce qui suggère que le courant I_h masque la sommation temporelle des PPSE. De plus l'activation du courant I_h par la lamotrigine, un anticonvulsant, appliqué localement au niveau des dendrites diminue l'excitabilité dans les dendrites sans beaucoup de changement au niveau du soma (Poolos et al., 2002).



Modulation

La principale voie de modulation et la première décrite est celle via les nucléotides cycliques. L'activation du courant I_h est très sensible aux concentrations d'AMPc/GMPc. Cette modulation est indépendante de la PKA (Pedarzani and Storm, 1995), et se produit sans phosphorylation (DiFrancesco and Tortora, 1991). Tous les isoformes de HCN possèdent un domaine de liaison aux nucléotides cycliques (CNBD) dans leur extrémité carboxyl-terminale. La fixation d'AMPc/GMPc permet de stabiliser l'état ouvert du canal et décale la courbe d'activation vers des valeurs plus positives. En l'absence d'AMPc/GMPc, le CNBD inhibe donc l'ouverture du canal (Wainger et al., 2001). Les différents isoformes HCN ont une sensibilité différente à l'AMPc/GMPc. HCN1 et HCN3 sont peu sensibles alors que HCN2 et HCN4 le sont beaucoup plus (Wainger et al., 2001).

La modulation du courant I_h par l'AMPc/GMPc permet un décalage de la courbe d'activation jusqu'à +20 mV. Mais cela ne suffit pas pour rendre compte du décalage de +40 à +60 mV de la courbe d'activation observé lors d'enregistrement en *Patch Clamp* en configuration *inside-out*. Récemment deux publications indépendantes identifient le modulateur manquant comme étant un phospholipide, le phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) (Zolles et al., 2006; Pian et al., 2006).

Une régulation par phosphorylation des canaux HCN est également possible. En effet, il existe un site de phosphorylation par la kinase src très conservé dans tous les isoformes HCN (Santoro et al., 1997; Zong et al., 2005). (Tableau 1).

Interaction avec d'autres protéines

La protéine MiRP1 agit comme une sous-unité β . Son action varie en fonction des isoformes HCN et du contexte cellulaire : augmentation ou diminution ou aucun effet sur les cinétiques d'activation et sur les amplitudes des courants I_h (Proenza et al., 2002).

Une interaction entre la partie C-terminale des 4 isoformes HCN et la protéine TRIP8b (*TRP containing Rab8b interacting protein*, Rab8b étant une petite protéine G impliquée dans le trafic vésiculaire) a été identifiée par la technique du double hybride dans les levures. Dans les cellules pyramidales de CA1 HCN1 et TRIP8b colocalisent parfaitement. L'expression de

TRIP8b dans des neurones pyramidaux en culture entraîne une diminution du courant I_h . Le rôle de TRIP8b serait donc de réguler la densité des canaux HCN présents à la surface membranaire (Santoro et al., 2004).

La filamine A, protéine d'échafaudage liant l'actine, interagit avec HCN1 par un domaine en aval du CNBD qui n'est pas présent chez les autres isoformes HCN. La courbe d'activation du courant I_h est fortement accélérée en présence de filamine A. La présence de la filamine A modifie également la localisation de HCN1 à la membrane. Là aussi la filamine A peut être responsable de l'adressage spécifique de HCN1 à la membrane ce qui rendrait compte du gradient somato-dendritique (Gravante et al., 2004).

Il a été aussi montré que HCN2 pouvait interagir avec de nombreuses autres protéines d'échafaudage : la talamine, S-SCAM et Mint2. Les sites d'interaction sont distincts pour chacune de ces protéines. La talamine est déjà connue pour interagir avec un motif de liaison PDZ des mGluR1 et 2 (Kimura et al., 2004) (Figure 13).

Le courant I_h peut également être régulé par l'action de molécules extracellulaires telles que le BDNF (Thoby-Brisson et al., 2000), le CRF (*Corticotrophin Releasing Factor*; (Qiu et al., 2005)) et la vitronectine (composant de la matrice extracellulaire, (Vasilyev and Barish, 2004)).

Le courant I_h est également modifié par l'activité (voir §1.4.).

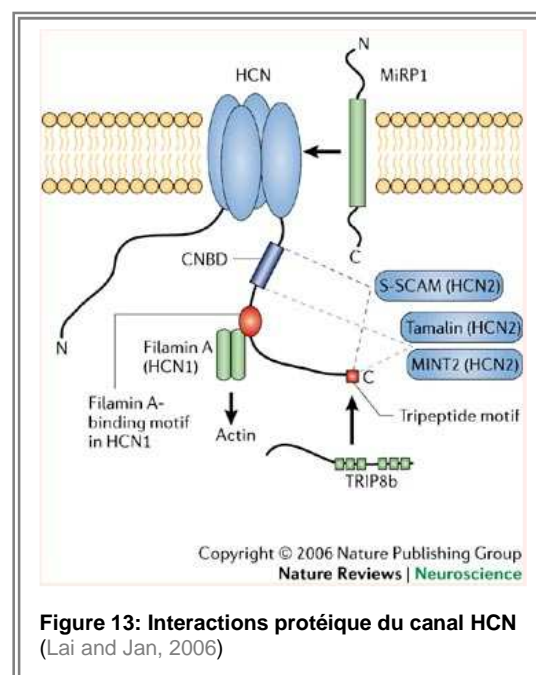


Figure 13: Interactions protéiques du canal HCN
(Lai and Jan, 2006)

Channel	Voltage Dependence		Kinetics †			Pharmaco	Modulate
	Activation*	Inactivation**	Activation	Deactivation	Inactivation		
Na ⁺	>-45 mV	>80%	<1 ms	<1 ms	~1 ms	TTX	PKC
Ca _T	>-70 mV	<25%	5 ms	5 ms	25 ms	Ni	?
Ca _L	>-60 mV	~100%	~1 ms	<1 ms	minimal	Dihydrop.	PKA
Ca _N	>-20 mV	>70%	~1 ms	<1 ms	50 ms	GVIA	G protein
Ca _P	>-40 mV	>90%	~1 ms	<1 ms	100s ms	Aga IVA	G protein
Ca _R	>-40 mV	>50%	~1 ms	<1 ms	50 ms	Ni	?
K _{Transient}	>-50 mV	>70%	~1 ms	<1 ms	~7 ms	4AP	Kinases
K _D	>-50 mV	>70%	~1 ms	<1 ms	~20 ms	αDTX	Kinases
K _S	>-30 mV	~100%	~3 ms	<1 ms	minimal	TEA	Kinases
H	<-50 mV	~100%	~50 ms [‡]	5 ms [‡]	none	ZD7288	CNTs

*Potentials where channels start activating; **percentage of population available at -70 mV; †determined at 0, -60, and -20 mV, respectively, at ~22°C; ‡at -80 and -45 mV at 35°C.

Tableau 1: Propriétés des canaux
(adapté de Stuart et al. (2007) in : Dendrite Oxford University press)

1.2.3.3. Signification physiologique de l'amplification d'intégration

L'amplification des PPSE sous-liminaire a des implications très importantes dans leur intégration et donc dans le mode de décharge des neurones et leur excitabilité. Par exemple, des grands PPSE composites peuvent être évoqués par la décharge simultanée de cellules pyramidales voisines (discussion dans Stuart and Sakmann, 1995). Une propriété intéressante de l'amplification sodique dans le cortex (Stuart and Sakmann, 1995) est associée à une augmentation plus importante de l'intégrale des PPSE que de leur amplitude. L'amplification concerne donc également la durée des PPSE : la vitesse de repolarisation des PPSE est d'autant plus faible qu'ils sont amplifiés. Par conséquent, la fenêtre de sommation temporelle des PPSE est plus grande. Enfin, l'amplification des PPSE par les canaux sodium dépendant du voltage, localisés à proximité du soma et dans l'axone, augmente la capacité des PPSE distaux à initier un PA.

L'amplification des PPSE a aussi une grande influence sur la précision temporelle du PA évoqué par un PPSE (Fricker and Miles, 2000). À l'inverse des interneurones, la décharge des neurones pyramidaux de l'hippocampe n'est pas très précise et se traduit par des fluctuations importantes dans la latence d'apparition des PA pour une entrée synaptique donnée (Fricker and Miles, 2000). Ceci peut s'expliquer par le fait que l'amplification est plus importante dans ces neurones par rapport aux interneurones où l'amplification est rognée par une forte atténuation tardive. Dans les pyramidales, la fenêtre temporelle durant laquelle un PA peut être émis est donc plus large permettant même une émission tardive de PA.

Finalement, des régulations des conductances intrinsèques dépendantes du voltage impliquées dans l'amplification des PPSE (Hoffman and Johnston, 1998;Desai et al., 1999) pourraient modifier l'efficacité (Chavez-Noriega et al., 1990) et la précision temporelle du transfert de l'information nerveuse à la synapse (Fricker and Miles, 2000).

1.2.4. Initiation du potentiel d'action

Le potentiel d'action est dû à une entrée massive d'ions sodium dans le neurone provoquée par l'ouverture des canaux sodium voltage dépendant (I_{NaT}). Lors du fonctionnement normal du SNC, le seuil d'activation n'est atteint qu'après sommation temporelle et/ou spatiale des entrées synaptiques. Le site d'initiation des PA se situe généralement dans l'axone, au niveau du segment initial ou du premier nœud de Ranvier (COOMBS et al., 1957;FATT, 1957;FUORTES et al., 1957;Clark et al., 2005;Palmer and Stuart, 2006), mais peut également se déplacer dans les dendrites dans certaines conditions (Turner et al., 1991;Stuart and Sakmann, 1994;Stuart et al., 1997). Le PA se propage ensuite activement tout au long de l'axone jusqu'aux terminaisons axonales (pour revue Eccles, 1964;Stuart and Sakmann, 1994) mais également dans l'arbre dendritique. Cette invasion dans les dendrites par des PA qualifiés alors de rétropropagés varie en fonction du type cellulaire. Dans la plupart des neurones dans lesquels ils ont été étudiés, les PA se rétropropagent activement dans les dendrites. L'amplitude des PA rétropropagés diminue avec la distance parcourue en s'éloignant du soma, mais reste tout de même supérieure à celle attendue lors d'une propagation passive (Stuart and Sakmann, 1994;Hausser et al., 1995;Spruston et al., 1995;Larkum et al., 1996;Bischofberger and Jonas, 1997;Chen et al., 1997). Cette rétropropagation active est supportée par les canaux Na^+ voltage-dépendants, qui sont présents dans les dendrites de plusieurs types de neurones (Stuart and Sakmann, 1994;Magee and Johnston, 1995;Hausser et al., 1995;Bischofberger and Jonas, 1997). Cependant, dans la plupart des neurones, la rétropropagation est décrémente, certainement parce que la densité en canaux Na^+ est trop faible et celle en K^+ trop élevée pour permettre une conduction non décrémente (Mainen et al., 1995;Rapp et al., 1996). Il existe des variations de densité en canaux Na^+ dendritiques en fonction du type cellulaire. Dans les neurones pyramidaux la densité en canaux Na^+ est faible mais constante tout au long de la dendrite apicale (Stuart and Sakmann, 1994;Magee and Johnston, 1995), alors que les cellules mitrales du bulbe olfactif semblent posséder une plus grande densité en canaux Na^+ dans leurs dendrites et donc une meilleure rétropropagation (Bischofberger and Jonas, 1997). A l'inverse, les cellules de Purkinje n'ayant qu'une faible densité en canaux Na^+ dans leurs dendrites, ne montrent pas une rétropropagation active des PA (Llinas and Sugimori, 1980a;Llinas and Sugimori, 1980b;Lasser-Ross and Ross, 1992;Stuart and Hausser, 1994). Toutefois, la corrélation entre la densité en canaux Na^+ dendritique et la rétropropagation n'est

pas stricte, en effet les neurones dopaminergiques de la substance noire ont essentiellement une rétropropagation non décrémente bien que ne possédant une densité en canaux Na^+ plus faible que les cellules pyramidales (Hausser et al., 1995).

Un élément essentiel de la propriété de déclenchement en tout ou rien du potentiel est la notion de seuil. On peut distinguer 2 types de seuils : le seuil de courant, représentant le courant minimal injecté pour induire la genèse d'un PA (appelé aussi rhéobase) et le seuil de voltage correspondant à la valeur du potentiel de membrane à partir de laquelle un PA peut être généré.

Le seuil de courant n'est pas fixe et dépend de la durée du courant injecté : le seuil de courant est d'autant plus réduit que la durée du courant injectée augmente (Lapique, 1907;Nernst, 1908;Fricker and Miles, 2000). Cette propriété est due aux propriétés passives de charge de la membrane et à un facteur d'accommodation dû à une augmentation de conductances potassium et à une inactivation de conductances sodium lors de stimuli dépolarisants lents.

Noble & Stein ont défini le seuil de potentiel comme étant le potentiel pour lequel les courants entrants excèdent les courants sortants (Noble and Stein, 1966). Il a été montré que la valeur de ce seuil n'est pas fixe pour les différentes régions d'un même neurone ; il est plus hyperpolarisé au niveau de la région somatique que pour les autres régions (COOMBS et al., 1955). Un PA est déclenché à partir de la dépolarisation provoquée par un PPSE, si cette dépolarisation atteint le seuil de déclenchement du PA.

Ainsi, dans les neurones pyramidaux de la région CA1 de l'hippocampe, ce seuil est généralement atteint vers un potentiel de -46 mV (Fricker et al., 1999;Staff et al., 2000) mais peut varier pour une même cellule selon un certain nombre de paramètres, comme la balance entre les différents types de conductances voltage-dépendantes (Koyano et al., 1996;Andreasen and Lambert, 1998) ou la région considérée (Anderson et al., 1987;Colbert and Pan, 2002). D'autres études donnent également un rôle à la vitesse de dépolarisation de la membrane : le seuil est plus hyperpolarisé si la vitesse de dépolarisation est élevée (Stafstrom et al., 1984;Nedergaard, 1999;Azouz and Gray, 2000;Henze and Buzsaki, 2001). Cette relation entre seuil et vitesse de dépolarisation dépendrait des canaux potassiques de type A (Nedergaard, 1999).

Enfin, le seuil de voltage peut être modulé suite à l'induction de la potentialisation du couplage E-S dans l'hippocampe (Chavez-Noriega et al., 1990) et dans les cellules en grain du cervelet (Armano et al., 2000).

1.3. Plasticité de la transmission synaptique

Le SNC possède une capacité remarquable d'adaptation aux changements de son environnement. Cette caractéristique implique des phénomènes de remodelage appelés plasticités. En particulier, la synapse est capable de modifier son efficacité en fonction de l'activité du réseau ou de l'action de certains neurotransmetteurs, résultant en un changement de l'amplitude (augmentation ou diminution) des potentiels synaptiques. La distinction entre les différentes formes de plasticité se fait généralement en fonction de leur effet, leur durée, leurs mécanismes d'induction et d'expression. Classiquement on distingue deux formes de plasticité :

- i) la plasticité à court terme, d'une durée allant de quelques millisecondes à quelques minutes et intervenant dans des processus d'adaptation rapide.
- ii) la plasticité à long terme, d'une durée allant de 30 min à quelques heures, jours voir des semaines, qui représenterait une forme de stockage persistant de l'information neuronale impliquée dans les processus mnésiques et/ou développementaux (pour revue Bliss and Collingridge, 1993;Frégnac and Shulz, 1994;Martin et al., 2000;Dan and Poo, 2006)

La plasticité à court terme s'exprime par un accroissement (facilitation) ou une diminution (dépression) transitoire de l'amplitude de la réponse postsynaptique. Des stimulations répétées du neurone présynaptique, espacées par un intervalle de temps variable, sont l'un des moyens couramment utilisé afin d'estimer la plasticité à court terme. Les caractéristiques de la seconde réponse sont comparées à celle de la première. Ainsi, on parle de facilitation si la deuxième réponse est plus grande que la première et de dépression si elle est plus petite. La plupart des études ont montré que la plasticité à court terme est due à des modifications présynaptiques et dépend généralement des niveaux de calcium de la terminaison présynaptique (pour revue Zucker and Regehr, 2002).

La plasticité à long terme correspond à un renforcement (LTP) ou une diminution (LTD) durable de l'efficacité synaptique. Deux formes de plasticité à long terme peuvent être distinguées en fonction de leur protocole d'induction : la plasticité homosynaptique et la plasticité associative.

La plasticité de la transmission synaptique a été étudiée dans de nombreuses synapses de l'hippocampe : les synapses glutamatergiques entre cellules pyramidales (pour revue Bliss and Collingridge, 1993;Sourd et al., 1999), cellules pyramidales sur interneurons (Ouardou et al., 1995;Maccaferri and McBain, 1996;McBain and Maccaferri, 1997;Cowan et al., 1998;Lapointe et al., 2004;Lamsa et al., 2005;Lamsa et al., 2007;pour revue Kullmann and Lamsa, 2007) et les synapses GABAergiques entre interneurons et cellules pyramidales (McLean et al., 1996a;Caillard et al., 1999;Woodin et al., 2003;Patenaude et al., 2005;Mendoza et al., 2006). Cette

plasticité se retrouve également dans d'autres structures du SNC, comme le cortex ou le cervelet (D'Angelo and Rossi, 1998;Feldman et al., 1999).

1.3.1.LTP et LTD homosynaptiques

La LTP représente probablement l'une des formes de plasticité la plus étudiée en raison de son rôle présumé dans l'apprentissage et la mémoire. Ce phénomène a été pour la première fois mis en évidence par Bliss et collaborateurs dans l'hippocampe. Deux études réalisées chez des lapins anesthésiés (Bliss and Lomo, 1973) et éveillés (Bliss and Gardner-Medwin, 1973) montrent qu'une stimulation tétanique à haute fréquence, appliquée sur des fibres afférentes, induit une augmentation de la réponse des cellules du gyrus denté. Cette potentialisation dure plus d'une dizaine d'heures chez les animaux anesthésiés et jusqu'à plusieurs semaines après plusieurs inductions consécutives chez les animaux éveillés (voir aussi Abraham et al., 2002). Ces résultats ont été par la suite confirmés par des études in vivo (Douglas and Goddard, 1975), in vitro (Schwartzkroin and Wester, 1975), puis dans diverses structures et types cellulaires chez différents animaux (Teyler and DiScenna, 1987;Bliss and Collingridge, 1993). Cette LTP induite par la seule activité de la synapse considérée, classiquement par des stimulations hautes fréquences des fibres afférentes (stimulations téaniques, 100Hz, HFS), est qualifiée de LTP homosynaptique.

Phénomène miroir de la LTP et mis en évidence plus tard, la LTD serait également impliquée dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation. Sa découverte a constitué un apport fondamental à la compréhension du fonctionnement des réseaux neuronaux doués de plasticité et a donné un sens à l'existence même de la LTP. En effet, il a été suggéré très tôt qu'un réseau de neurones ne pouvant exprimer uniquement de la potentialisation est un système où les poids synaptiques ne peuvent que croître jusqu'à arriver à saturation et à terme deviendrait non plastique (Bienenstock et al., 1982). La LTD est donc essentielle pour la conservation d'un potentiel de plasticité et augmente les capacités de mémorisation. Les capacités d'apprentissage d'un réseau formel de neurones sont donc optimisés si des règles de dépression synaptique sont intégrées au modèle (Morris and Willshaw, 1989).

La LTD est induite par une stimulation répétée à basse fréquence (1 à 5 Hz) pendant plusieurs minutes (Dunwiddie and Lynch, 1978;Dudek and Bear, 1992). Par analogie avec la LTP, cette dépression est dite homosynaptique et se traduit par une diminution la réponse postsynaptique. Il existe une relation étroite entre la fréquence de la stimulation des fibres afférentes et le sens de la plasticité induite. En effet, les changements de l'efficacité synaptique sont directement fonction de la fréquence de stimulation utilisée lors du protocole conditionnant ; ainsi les stimulations basses

fréquences (LFS) entraînent de la LTD et inversement les stimulations hautes fréquences (HFS) de la LTP (Dudek and Bear, 1992;Debanne, 1996;Bear, 1996) (Figure 14A).

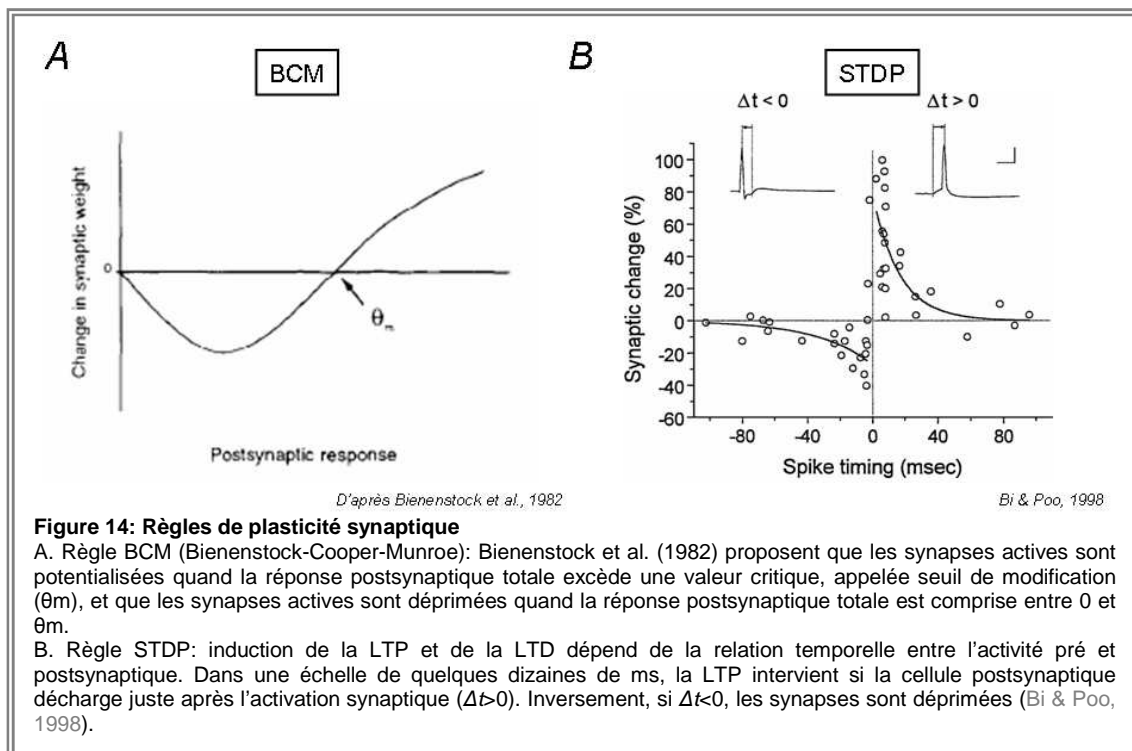
1.3.2.LTP et LTD associatives

Une deuxième LTP qualifiée d'associative et reposant sur le postulat de Donald Hebb concernant la formation d'assemblées cellulaires a été décrite (Hebb, 1949). “ *When an axon of cell A is near enough to excite cell B or repeatedly or consistently takes part in firing it, some growth or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased* ”. Cette hypothèse stipule que l'efficacité de la connectivité entre deux cellules augmente lorsqu'il existe une relation causale entre les activités de ces cellules. Le mécanisme proposé par Hebb implique un renforcement des liens fonctionnels préexistants entre les neurones, ce qui aboutit à une stabilisation des schémas d'activation des chemins neuronaux empruntés et donc à un apprentissage. Sastry et collaborateurs, en 1986, montrent que l'induction de la LTP est favorisée si le neurone postsynaptique est dépolarisé pendant le conditionnement (Sastry et al., 1986). La LTP associative peut en réalité être induite en synchronisant temporellement l'activité pré- et postsynaptique (Kelso et al., 1986;Gustafsson et al., 1987)

En 1973, Stent proposa un corrélat au postulat de Hebb. “ *When the presynaptic axon of cell A repeatedly and persistently fails to excite cell B while cell B is firing some growth or metabolic change takes place in one or both cells such as A's efficiency, as one of the cell firing B, is decreased* ”. Cette LTD associative est donc induite lors d'une désynchronisation des activités pré- et postsynaptiques.

La plasticité associative dépend donc de la relation temporelle existant entre les activités pré- et postsynaptiques. En 1987, *Gustafsson et collaborateurs* ont couplé une activation synaptique (EPSP = activité présynaptique) avec l'injection d'un courant postsynaptique induisant un train d'une dizaine de PA (= activité postsynaptique). Une potentialisation est induite à la suite d'un appariement répété dans l'ordre EPSP puis PA (= corrélation positive pré-post). L'amplitude de cette potentialisation est fonction du délai Δt entre EPSP et activité postsynaptique, plus le délai est long plus la potentialisation diminue. Au-delà de 100ms, plus aucune potentialisation n'est observée. Quelques années plus tard Debanne et collaborateurs, ont démontré qu'une dépression est induite par appariement inversé, c'est-à-dire activité postsynaptique suivie par activité présynaptique (=corrélation négative ou post-pré) (Debanne et al., 1994). Comme précédemment l'amplitude de cette LTD dépend de l'intervalle et aucune plasticité n'est observée pour des délais avoisinant les - 100 ms.

Par la suite, des protocoles similaires ont été utilisés avec comme différence majeure l'utilisation d'un seul PA postsynaptique (Bell et al., 1997; Bi and Poo, 1998; Debanne et al., 1998; Zhang et al., 1998). L'ensemble de ces règles de plasticité induite par l'ordre temporel des PA (pré-post ou post-pré) est appelé *Spike-Timing dependant Plasticity* ou STDP (Figure 14B). Pour résumer le signe des modifications du poids synaptique est dicté par l'ordre temporel entre le PA pré- et le PA postsynaptique. L'amplitude des ces modifications synaptiques est, quant à elle, dictée par le délai entre les activités pré et postsynaptiques. Dans la majorité des cas (STDP hebbienne), un appariement avec un bref délai positif (pré-post) induit une LTP. Réciproquement, un appariement avec un bref délai négatif induit une LTD. Cette règle de STDP hebbienne a été validée dans différentes structures du SNC. Cependant, dans quelques structures, généralement inhibitrices, une règle inversée de STDP a été observée. Récemment, une inversion dans la règle de STDP a également été décrite pour les synapses distales des neurones pyramidaux de la couche V du néocortex (Letzkus et al., 2006; Sjostrom and Hausser, 2006), en raison de l'atténuation de la dépolarisation dendritique en fonction de l'éloignement du soma.



Les paramètres exacts de stimulations nécessaires/utilisés à l'induction de la LTP/LTD varient grandement selon les modèles cellulaires étudiés, ce qui laisse présager une hétérogénéité dans les mécanismes moléculaires impliqués. Ainsi dans le gyrus denté, certains auteurs ont défini trois types de LTP classées selon leurs cinétiques de maintenance (Raymond, 2007). Dans le cortex visuel primaire, les mécanismes de potentialisation diffèrent selon les couches corticales (Daw et al., 2004). Les mécanismes de LTP varient selon l'identité des synapses et des structures étudiées (Malenka

and Bear, 2004). Sauf indications contraires, nous ne détaillerons donc ici que la plasticité à long terme des synapses glutamatergiques sur les cellules pyramidales de la région CA1 de l'hippocampe.

1.3.3. Mécanismes d'induction

Mécanismes communs

Dans l'hippocampe, l'induction de la LTP et de la LTD au niveau des synapses glutamatergiques par des protocoles de téτανisation (HFS/LFS) ou de STDP, repose majoritairement sur des changements de la concentration intracellulaire en calcium $[Ca^{2+}]_i$ et dépend uniquement de l'activation des récepteurs NMDA (Gustafsson et al., 1987; Dudek and Bear, 1992; Mulkey and Malenka, 1992; Bliss and Collingridge, 1993; Debanne et al., 1994). De part la levée du bloc magnésium induite par une dépolarisation (possible grâce à la sommation temporelle des EPSP pour la plasticité homosynaptique ou grâce à la rétropropagation du PA dans les dendrites pour la STDP), nécessaire à leur activation, les récepteurs NMDA agissent comme des détecteurs de coïncidence des activités pré- et postsynaptiques. Comment le même signal peut-il être utilisé pour l'induction de la LTP ou de la LTD ? La quantité et la cinétique de l'influx calcique détermineraient le sens de la plasticité (Yang et al., 1999). Ainsi pour une augmentation rapide et importante de calcium une LTP serait induite tandis qu'une augmentation plus modérée mais plus étalée dans le temps entraînerait une LTD.

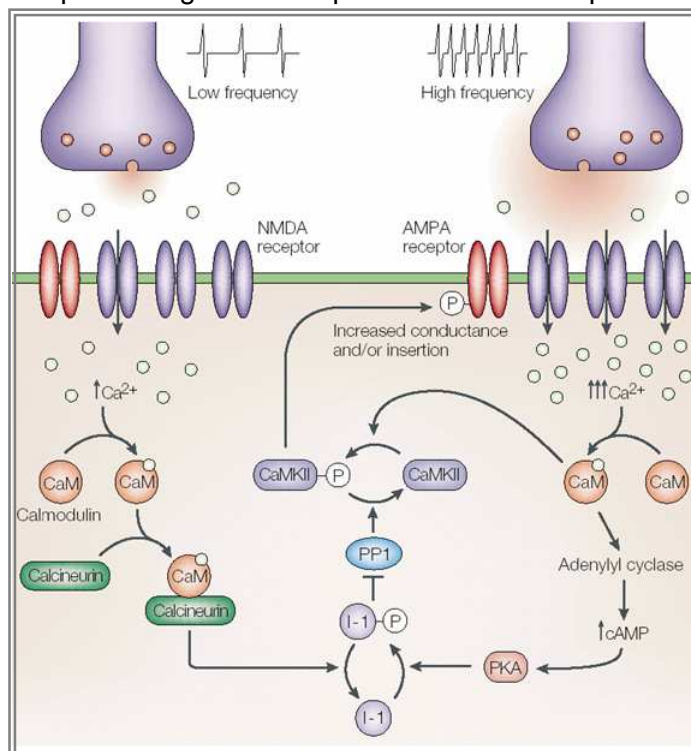


Figure 15: Mécanisme d'induction et d'expression de la LTP et de la LTD dans la région CA1 de l'hippocampe (Modèle de Lisman, 1989).

L'activation synaptique des récepteurs NMDA provoque une entrée d'ions calcium dans la cellule postsynaptique. D'après le modèle de Lisman (1989), la $[Ca^{2+}]_i$ va déterminer le sens de la plasticité synaptique, en activant spécifiquement les protéines kinases (CaMKII, PKA,...) ou phosphatases (PP1, Calcineurine,...). Dans l'hippocampe, la LTD est induite par une stimulation à basse fréquence des collatérales de Schaffer. L'activation synaptique à basse fréquence (*Low frequency*) qui provoque une entrée modérée d'ions calcium par les récepteurs NMDA et l'activation de la calcineurine, qui va désactiver l'inhibiteur-1 (I-1) de la PP1. La PP1 va à son tour déphosphoryler la CaMKII et la rendre inactive. La téτανisation à haute fréquence (100 Hz) des fibres collatérales de Schaffer induit la LTP. Une activation synaptique à haute fréquence induit une forte augmentation de calcium, propice à l'activation de protéines kinases, comme la PKA. La PKA active l'I1, qui empêche la PP1 de déphosphoryler la CaMKII. Cette dernière, alors active, peut aller phosphoryler les récepteurs AMPA et augmenter leur conductance ou induire l'insertion de nouveaux récepteurs à la membrane (Winder & Sweatt, 2001).

En effet, une forte augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ conduit à une activation des kinases sensibles au calcium alors que d'après le modèle proposé par Lisman (1989) une élévation plus modeste conduit à une activation des phosphatases (pour revue Winder and Sweatt, 2001) (Figure 15).

Le calcium nécessaire à l'induction de la plasticité synaptique homosynaptique ou associative peut également provenir des canaux calciques voltage-dépendants (Kullmann et al., 1992; Wang et al., 1997; Bi and Poo, 1998) ou des stocks internes (via la voie de l'IP3) (Wang et al., 1996; Wang et al., 1997; Nishiyama et al., 2000).

Mécanismes alternatifs/spécifiques

D'autres travaux suggèrent que les mGluR pourraient aussi jouer un rôle de détecteur de coïncidence dans l'induction de la STDP, via leur couplage aux canaux calciques voltage-dépendants (Karmarkar and Buonomano, 2002). Cette hypothèse est cohérente avec les résultats expérimentaux de Normann et collaborateurs reportant que la LTD induite par un appariement post-pré dans l'hippocampe est insensible au D-AP5 mais dépend de l'activation des mGluR (Normann et al., 2000). La LTD des cellules pyramidales des couches II/III corticales est également dépendante de l'activation des mGluR (Bender et al., 2006; Nevian and Sakmann, 2006). Des études utilisant des agonistes et des antagonistes des mGluR ont aussi mis en évidence l'importance de ces derniers dans le passage d'une potentialisation à court terme puis à long terme. L'application d'un agoniste non spécifique des mGluR, le (1S,3R)-ACDP, induit une potentialisation de la transmission synaptique dans la région CA1 de l'hippocampe (Bortolotto and Collingridge, 1992; Breakwell et al., 1996; Bortolotto et al., 1999). Cette forme de LTP est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA et est bloquée par l'application de PiTX (Breakwell et al., 1996). Les mGluR pourraient également avoir un rôle dans l'induction de la LTD. En effet, l'application de DHPG, un agoniste spécifique des mGluR5, induit une dépression persistante de l'efficacité synaptique associée à une augmentation des échecs synaptiques (Fitzjohn et al., 2001). Cette LTD n'est pas bloquée par l'application d'un chélateur calcique du BAPTA, suggérant un mécanisme calcium indépendant et d'origine présynaptique.

Concernant la STDP, il a également été mis en évidence une libération de messagers rétrogrades, tels que les endocannabinoïdes. Les endocannabinoïdes en agissant sur des récepteurs CB1 localisés au niveau présynaptique favorisent le développement de la LTD. Au niveau des synapses LV-LV du néocortex, la LTD-STDP nécessite l'activation présynaptique des récepteurs NMDA et des récepteurs CB1 (Sjostrom et al., 2003). Toutefois les endocannabinoïdes seuls peuvent être à l'origine de la LTD dans le cortex car le blocage des récepteurs CB1 prévient son induction (Bender et al., 2006; Tzounopoulos et al., 2007).

Enfin, le monoxyde d'azote NO, un autre messager rétrograde, a été montré comme étant déterminant dans l'induction de la LTP (Hawkins et al., 1998; Wang et al., 2005; Sjostrom et al., 2007).

1.3.4.Mécanismes d'expression

La LTP peut s'exprimer, au niveau cellulaire, de différentes manières :

Par des modifications postsynaptiques du nombre et/ou du fonctionnement des récepteurs.

L'augmentation du nombre de récepteurs à la surface membranaire postsynaptique par exocytose de vésicules contenant des récepteurs AMPA (pour revue Malinow and Malenka, 2002) ou NMDA (pour revue Carroll and Zukin, 2002) représente l'un des mécanismes majeur d'expression de la LTP. Les récepteurs peuvent également être phosphorylés entraînant ainsi par une modification de leurs propriétés biophysiques une augmentation de leur conductance (pour revue Lisman et al., 2002) (Figure 15). Cette augmentation de conductance et du nombre récepteurs sont à l'origine de l'augmentation du courant synaptique observée lors de la LTP.

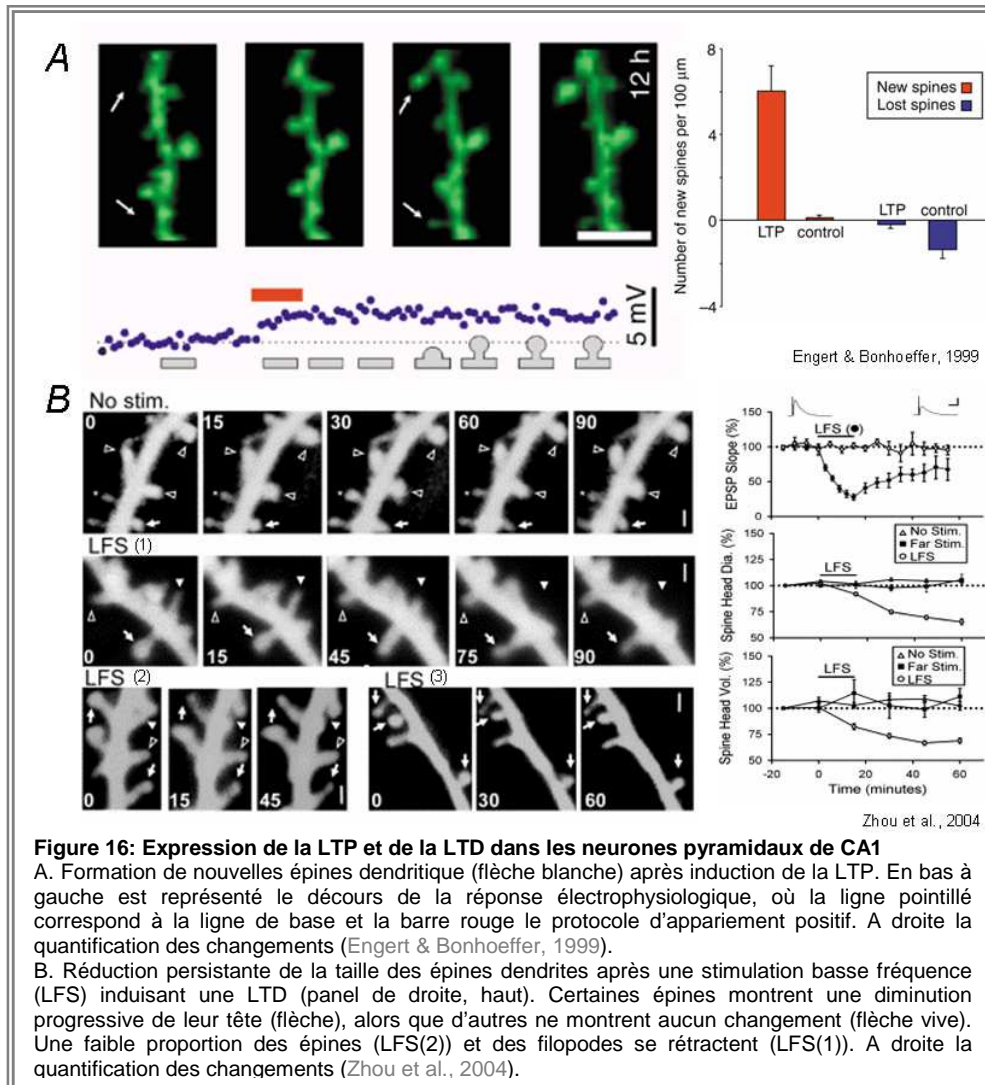
Par des modifications présynaptiques affectant la libération du glutamate.

Bien que de nombreuses données soient en faveur d'un mécanisme purement postsynaptique de l'expression de la LTP, certaines études reportent la possibilité que les modifications présynaptiques puissent intervenir. Cependant, ces changements n'ont été observés qu'au niveau de quelques synapses, comme celles entre fibres moussues et pyramidales de CA3 (Zalutsky and Nicoll, 1990). Des expériences de stimulation minimale ont montré que la LTP est accompagnée d'une diminution de la fréquence des échecs de transmission synaptique (Kullmann and Nicoll, 1992). Classiquement, une modification de la fréquence des échecs est interprétée comme un changement dans la probabilité de la libération des neurotransmetteurs. La LTP peut alors être expliquée par une augmentation de la libération de glutamate.

Par des modifications morphologiques pré et/ou postsynaptiques.

Le maintien dans le temps de la LTP fait intervenir à plus long terme la synthèse de nouvelles protéines et la transcription de gènes (Abraham and Williams, 2003;Pittenger and Kandel, 2003;Lynch, 2004). Ces régulations géniques sont à l'origine de modifications morphologiques des boutons synaptiques (pour revue Luscher et al., 2000;Smart and Halpain, 2000). La forme et la structure des épines dendritiques ont une influence non négligeable sur la transmission synaptique. Il est intéressant de noter que le maintien de ces structures postsynaptiques est assuré par leur stimulation par le glutamate (McKinney et al., 1999) pendant le fonctionnement normal de la synapse. Des changements de fonctionnement de la synapse comme la LTP pourraient alors induire des changements morphologiques et donc fonctionnels des épines dendritiques. Il a en effet été montré que l'induction de la LTP est associée à des modifications ultrastructurales majeures des synapses, se caractérisant par une augmentation rapide du nombre de synapses perforantes, de la surface de

contact entre éléments pré et postsynaptiques, de la surface des densités postsynaptiques, de la taille des épines (Buchs and Muller, 1996; Toni et al., 1999; Toni et al., 2001; Matsuzaki et al., 2004) et par l'émergence de filopodes (Maletic-Savatic et al., 1999) ou de nouvelles épines (Engert and Bonhoeffer, 1999) (pour revue Nikonenko et al., 2002; Alvarez and Sabatini, 2007) (Figure 16A).



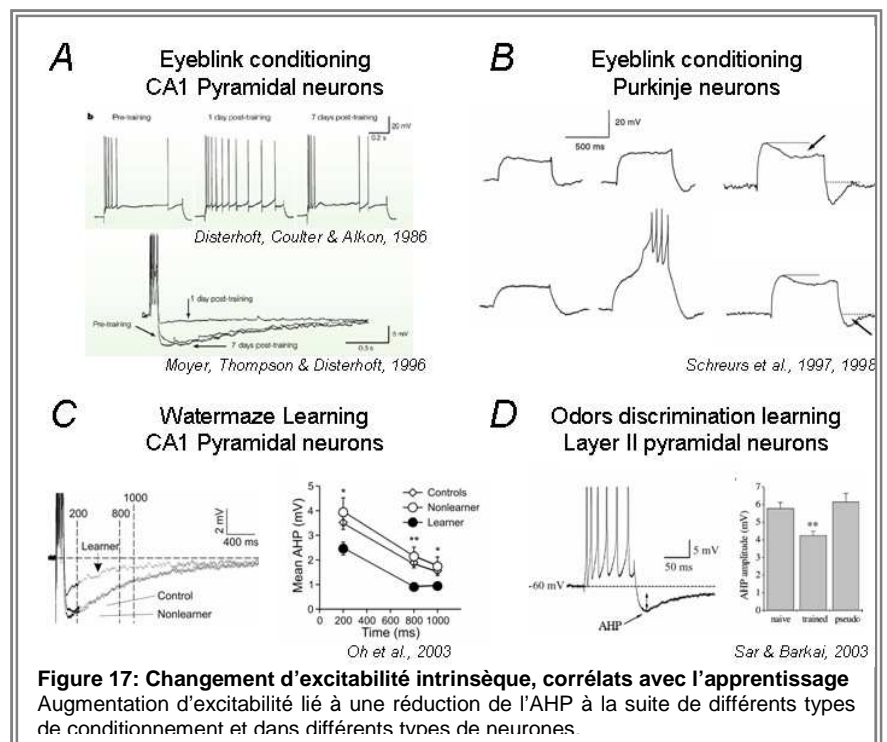
Etant donné le fait que LTP et LTD partagent le même message d'induction (entrée de calcium via les récepteurs NMDA) activant sélectivement soit la voie des kinases, soit la voie des phosphatases, on peut envisager que des modifications opposées d'un même mécanisme puissent être responsables de l'expression de LTP et de la LTD. Ainsi, la LTD peut s'expliquer par une diminution des conductances AMPA et/ou NMDA due à une déphosphorylation (pour revue Winder and Sweatt, 2001) ou une endocytose des récepteurs (pour revue Carroll et al., 2001). Récemment, *Zhou et collaborateurs* ont montré que l'induction de LTD s'accompagne d'un rétrécissement des épines (Zhou et al., 2004) (Figure 16B). Ce phénomène requiert l'activation des récepteurs NMDA et de la calcineurine, et peut être inversé par l'induction d'une LTP.

1.4. Plasticité de l'excitabilité neuronale dépendant de l'activité

Ces dernières années, plusieurs évidences supportent l'hypothèse que le stockage de l'information et donc la mémoire implique des modifications persistantes de la fonction synaptique dépendantes de l'expérience, telles que la LTP et LTD. Les mécanismes de cette plasticité de la transmission synaptique (LTP/LTD) sont aujourd'hui relativement bien compris. En parallèle de la plasticité synaptique, une plasticité "non-synaptique", affectant des régions du neurone spécialisées dans l'intégration et la genèse du message nerveux, pourrait également participer au stockage de l'information à mémoriser. Ces changements d'excitabilité intrinsèque neuronale (plasticité intrinsèque) font intervenir une modulation des conductances voltage-dépendantes présentes à la membrane (pour revue Zhang and Linden, 2003; Daoudal and Debanne, 2003; Frick and Johnston, 2005; Campanac and Debanne, 2007) attribuant ainsi un nouveau rôle à la membrane postsynaptique dans la régulation du transfert d'une information dans un réseau neuronal et dans sa capacité à stocker une information (Spitzer, 1999). Les changements d'excitabilité intrinsèques pourraient ainsi être un mécanisme faisant partie de l'engramme lui-même, ou d'un phénomène lié tel que la consolidation.

1.4.1. Corrélats de l'apprentissage

Alkon et collaborateurs ont décrit l'un des premiers exemples de plasticité intrinsèque à la suite d'un conditionnement chez l'invertébré (Alkon et al., 1982; Alkon, 1984). Une augmentation d'excitabilité, due à une réduction persistante des courants potassiques I_A et I_{KCa} , a été observée au niveau du photorécepteur B à la suite d'un conditionnement de la réponse phototaxique chez le mollusque *Hermisenda*. Une augmentation d'excitabilité à la suite d'apprentissage de type associatif



a été aussi observée dans différentes espèces résultant très souvent d'une diminution du seuil d'émission des PA (Gainutdinov et al., 1998; Gainutdinov et al., 2000; Burrell et al., 2001).

Chez les vertébrés, le premier report de plasticité intrinsèque a été fait chez le chat lors d'un apprentissage utilisant un conditionnement associatif (Brons and Woody, 1980). A l'aide d'enregistrements intracellulaires du cortex sensorimoteur de chats éveillés, les auteurs montrent que le courant nécessaire à la production d'un PA est significativement plus faible dans les neurones des animaux entraînés par rapport aux animaux contrôles. Cet effet est restreint aux cellules qui projettent sur les muscles impliqués dans la réponse conditionnante et persiste durant au moins 28 jours. Plusieurs travaux ont, par la suite, montré une augmentation d'excitabilité dans les cellules pyramidales de l'hippocampe après un conditionnement de fermeture de la paupière avec en parallèle une diminution de l'AHP (Disterhoft et al., 1986; Coulter et al., 1989; de Jonge et al., 1990; Moyer, Jr. et al., 1996; Thompson et al., 1996) (Figure 17A). Des enregistrements en patch clamp révèlent également une diminution du courant potassique sensible au calcium I_{AHP} dans les cellules de CA1 (Sanchez-Andres and Alkon, 1991). Un deuxième type de conditionnement de la membrane nictitante du lapin, impliquant le cervelet et non l'hippocampe, entraîne une diminution du seuil des PA et une atténuation de l'AHP dans les dendrites des cellules de Purkinje chez les animaux conditionnés par rapport aux contrôles (Schreurs et al., 1997; Schreurs et al., 1998) (Figure 17B). Toutefois, même si les auteurs ne parlent ici que d'une régulation de l'AHP, il semblerait qu'il y ait également une diminution du courant I_h . Cette plasticité de l'excitabilité est toujours présente 30 jours après l'entraînement. Des résultats similaires ont été obtenus par *Barkai et collaborateurs* lors d'un apprentissage opérant à renforcement positif qui est un conditionnement où le sujet change son comportement en apprenant les conséquences de ses actions. Dans ce protocole des rats assoiffés apprennent à discriminer deux odeurs, dont l'une, positive, est associée à l'obtention d'eau. L'enregistrement des pyramidales de la couche II du cortex pyriforme montre une réduction de l'AHP après un train de PA et une accommodation dans la fréquence de charge des PA chez les animaux conditionnés par rapport aux animaux contrôles (Saar et al., 1998; Saar et al., 2001; Seroussi et al., 2002) (Figure 17D). Enfin il a été également montré une réduction de l'AHP dans les neurones pyramidaux de CA1 à la suite d'un apprentissage spatial (Oh et al., 2003) (Figure 17C).

Un large nombre d'organismes et de tâches d'apprentissage produisent un changement d'excitabilité, en général une augmentation d'excitabilité se manifestant par une diminution du seuil des PA, une accommodation de la décharge des PA, et une diminution de l'AHP. Dans certains cas, ces changements d'excitabilité induits par les conditionnements sont associés à des changements persistants de la transmission synaptique dans les mêmes neurones ou dans une portion proche du circuit local. Dans plusieurs cas, le degré de plasticité intrinsèque est positivement corrélé avec des

mesures d'apprentissage, suggérant une possible relation causale entre plasticité intrinsèque et comportement.

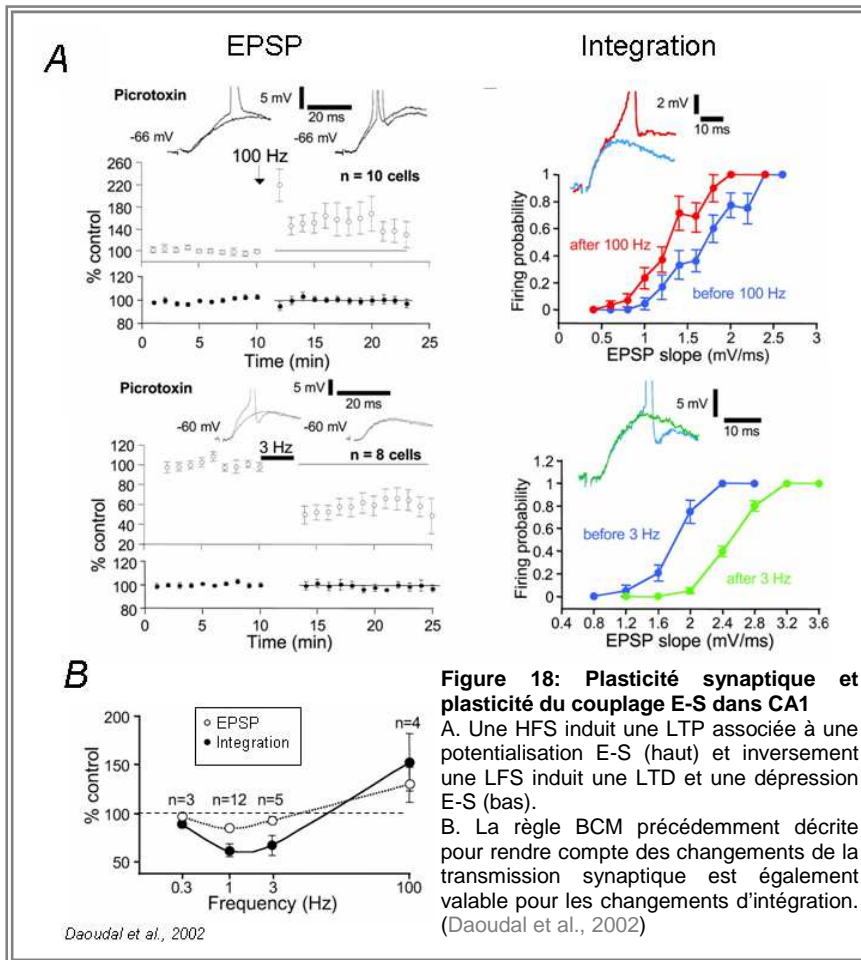
1.4.2.LTP/LTD et plasticité à long terme de l'excitabilité

1.4.2.1. Plasticité postsynaptique

La plasticité synaptique et la plasticité de l'excitabilité (plasticité non synaptique) partagent de nombreuses caractéristiques. Toutefois la plasticité de l'excitabilité ne doit pas être vue comme une plasticité additionnée à la plasticité synaptique mais s'inscrit dans un schéma global où toutes deux interagissent de manière cohérente. En effet, il existe une synergie fonctionnelle entre plasticité synaptique et plasticité de l'excitabilité. Dans l'hippocampe la téτανisation haute fréquence des fibres perforantes ou des collatérales de Schaffer induit non seulement une potentialisation de la composante synaptique excitatrice (Bliss and Lomo, 1973), mais aussi une augmentation de la probabilité de décharge pour une entrée excitatrice donnée (Bliss and Lomo, 1973; Bliss et al., 1973; Andersen et al., 1980; Abraham et al., 1987), appelée potentialisation E-S.

Une potentialisation de l'excitabilité associée à une LTP a aussi été décrite dans les cellules en grain du cervelet (Armano et al., 2000).

La LTD permet de conserver une plasticité dans le réseau et augmente les capacités de stockage de l'information. Des changements bidirectionnels de l'excitabilité postsynaptique empêcheraient donc également la saturation du système et permettraient une plus grande capacité de mémorisation. Ce n'est que récemment qu'une dépression E-S a été mise en évidence ; elle est observée en parallèle d'une LTD induite par stimulation basse fréquence (Daoudal et al., 2002) (Figure 18A). Le couplage E-S est fortement déterminé par la transmission synaptique inhibitrice. En effet, l'application d'un bloqueur du canal des récepteurs GABA_A, la picrotoxine (PiTX), induit à elle seule une très forte potentialisation E-S dans les cellules pyramidales de CA1 (Abraham et al., 1987; Chavez-Noriega et al., 1989). Cependant, des résultats contradictoires ont été obtenus quant à la contribution de l'inhibition GABA_A dans la potentialisation E-S. Des études précédentes ont montré que l'induction de la potentialisation E-S est complètement abolie en présence de PiTX (Abraham et al., 1987; Chavez-Noriega et al., 1989; Tomasulo and Ramirez, 1993) tandis que d'autres rapportent la présence d'une composante PiTX-résistante (Asztely and Gustafsson, 1994; Jester et al., 1995; Daoudal et al., 2002). Ceci suggère la présence de changements d'excitabilité intrinsèque (Taube and Schwartzkroin, 1988) en plus d'un déséquilibre dans la balance excitation/inhibition (Lu et al., 2000).



qui suggère que les changements d'excitabilité soient restreints à une portion dendritique.

A ce jour, les mécanismes précis d'expression de la plasticité E-S ou plus généralement de l'excitabilité intrinsèque ne sont pas encore clairement établis.

Peu d'études se sont intéressées à une plasticité E-S induite par des protocoles de type Hebbien. Seule une potentialisation E-S associative a été mise évidence (Jester et al., 1995). En effet, la stimulation des afférences des cellules pyramidales de CA1 associée à la décharge de ces mêmes cellules par stimulation antidromique à haute fréquence, engendre une potentialisation du PA de population enregistré extracellulairement sans affecter la composante synaptique. Cette potentialisation ne semble pas restreinte aux synapses activées lors du conditionnement. Elle est dépendante de l'activation des récepteurs NMDA et indépendante de l'inhibition GABA_A. A ce jour, aucune étude n'a montré l'existence d'une dépression E-S induite par des protocoles de type STDP. Toutefois des changements bidirectionnels de sommation à la suite de ce type de protocoles ont été montrés. Une brève période de corrélation entre activité pré et postsynaptique qui induit une LTP ou une LTD, entraîne également, respectivement, une augmentation ou une diminution de la sommation spatiale des EPSP (Wang et al., 2003) (Figure 19A). Ces changements de sommation

Cette plasticité du couplage E-S, en partie indépendante de l'inhibition médiée par les récepteurs GABA_A et GABA_B (Daoudal et al., 2002; Staff and Spruston, 2003; Marder and Buonomano, 2003), représente ~40% de la plasticité E-S totale (Daoudal et al., 2002), confirmant donc qu'en condition contrôle une importante fraction de la plasticité E-S implique une modulation de l'excitabilité intrinsèque. Cette composante requiert l'activation des récepteurs NMDA et est spécifique de la voie tétanisée (Hess and Gustafsson, 1990; Daoudal et al., 2002), ce

s'accompagnent de changements de la forme des PPSE : ralentissement de la cinétique du PPSE avec augmentation du temps de montée et de retour après LTP et inversement après LTD.

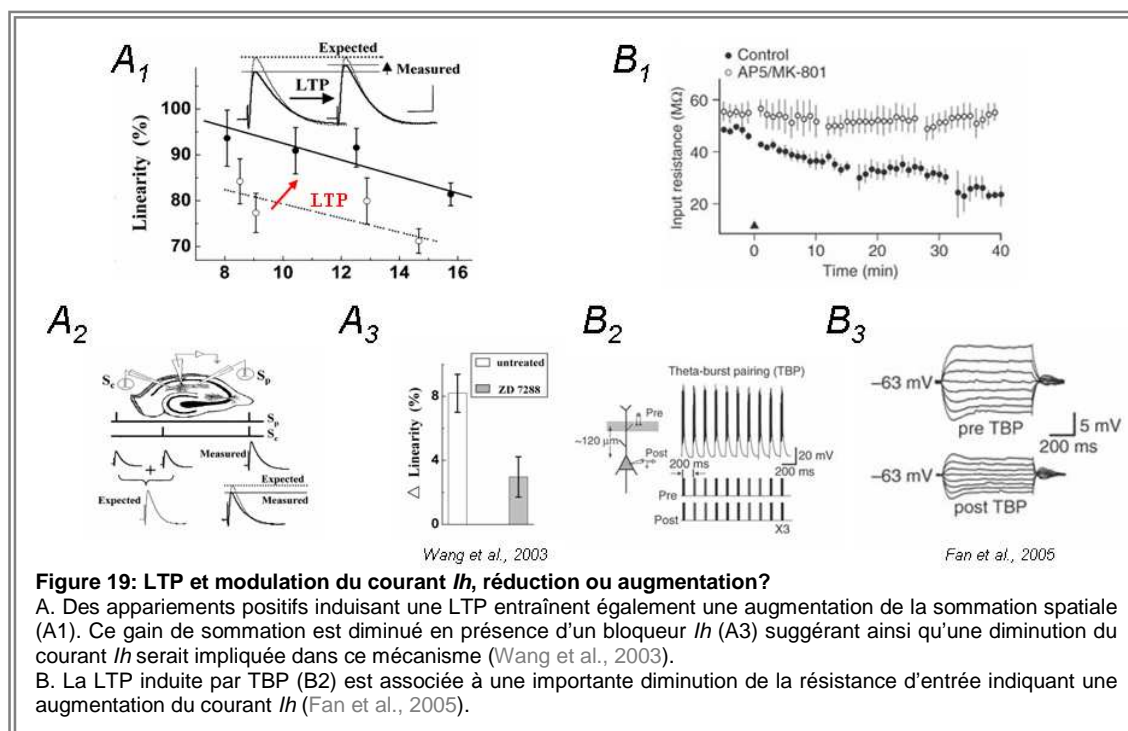


Figure 19: LTP et modulation du courant I_h , réduction ou augmentation?

A. Des appariements positifs induisant une LTP entraînent également une augmentation de la sommation spatiale (A₁). Ce gain de sommation est diminué en présence d'un bloqueur I_h (A₃) suggérant ainsi qu'une diminution du courant I_h serait impliquée dans ce mécanisme (Wang et al., 2003).

B. La LTP induite par TBP (B₂) est associée à une importante diminution de la résistance d'entrée indiquant une augmentation du courant I_h (Fan et al., 2005).

Cette plasticité de la sommation, tout comme la plasticité synaptique qui lui est associée, est spécifique de la voie synaptique modifiée et nécessite l'activation des récepteurs pour son induction. Une diminution persistante du courant I_h ainsi qu'une augmentation de la composante NMDA semblent être impliquées dans l'expression d'augmentation de la sommation. La potentialisation E-S PiTX-résistante est également associée à une prolongation de la phase de retour du PPSE (Hess and Gustafsson, 1990) suggérant ainsi un rôle probable de I_h dans son expression.

Une seconde étude réalisée dans les neurones pyramidaux de CA1 confirme l'existence d'une régulation du courant I_h associée à l'induction d'une LTP (Fan et al., 2005) (Figure 19B), la LTP étant ici induite par TBP (= stimulation synaptique sous-liminaire associée à des PA postsynaptiques rétropropagés ou déclenchés par des créneaux de courant positif, à la fréquence tétha, figure 19B₂). Cette LTP s'accompagne d'une augmentation locale de l'excitabilité dendritique (Frick et al., 2004) et d'une diminution plus globale de l'excitabilité neuronale (Fan et al., 2005) qui dépend de l'activation des récepteurs NMDA. L'augmentation locale de l'excitabilité dendritique résulte d'une hyperpolarisation de la courbe d'inactivation du courant I_A , ce qui entraîne une diminution de ce courant et favorise la rétropropagation des PA dans cette portion de dendrite (Frick et al., 2004).

En revanche, la diminution d'excitabilité globale du neurone est due à la régulation d'une seconde conductance, I_h , car bloquée en présence de ZD7288 (Fan et al., 2005). Ce changement se traduit par une diminution de la fonction entrée-sortie du neurone et peut aussi être induit par la seule décharge du neurone (TBF = *tetha burst firing*). Les deux cas, cette plasticité de l'excitabilité nécessite l'activation des récepteurs NMDA, une entrée de calcium, l'activité de la CaMKII et la

synthèse de protéines. Une forte augmentation de l'activité synaptique à la suite d'une application brève de KCl (10mM, 5min) entraîne également une augmentation du courant I_h due à une augmentation NMDA-dépendante des sous-unités HCN1 (Fan et al., 2005). L'augmentation du courant I_h est donc observée après l'induction d'une forte LTP (TBP), une importante activité postsynaptique (TBF) ou pré- et postsynaptique (KCl). En toute rigueur, elle ne correspond pas à un changement d'excitabilité accompagnant la LTP mais à un mécanisme d'homéostasie permettant au neurone de diminuer son excitabilité en réponse à une activité trop intense (voir §1.4.3.).

Par ailleurs, une diminution du courant I_A synapse spécifique a également été reportée (Kim et al., 2007) résultant d'une internalisation des canaux Kv4.2 et non d'un déplacement de sa courbe d'inactivation précédemment décrit par *Frick et collaborateurs*. Les auteurs décrivent ici une internalisation des canaux Kv4.2 situés dans les épines dendritiques par un mécanisme NMDA-R-dépendant et clathrine-dépendant en réponse à une stimulation AMPA, une LTP chimique (glycine 200μM, 3-5 min) ou une LTP induite par corrélation positive.

Enfin, la LTP de l'excitabilité intrinsèque (LTP-IE) résultant d'une diminution du seuil des PA attribuable à une hyperpolarisation de la courbe d'activation du courant I_{Na} , a été observée dans les pyramidales de CA1 à la suite de l'induction de LTP par STDP (Xu et al., 2005). Cette LTP-IE, elle aussi, nécessite l'activation des récepteurs NMDA, une entrée de calcium, l'activité de la CaMKII et la synthèse de protéines.

A côté des récepteurs NMDA, les récepteurs mGluR sont l'autre acteur majeur de l'induction de la plasticité synaptique dans l'hippocampe, le néocortex et le cervelet. L'évidence de leur contribution dans l'induction de plasticité intrinsèque est quant elle plus récente. La première évidence de l'implication des mGluR dans la plasticité intrinsèque fut apporté par le fait que dans la région CA1, l'application d'un agoniste large spectre des mGluR, l'ACPD, induit en plus d'une LTP une augmentation du couplage E-S (Breakwell et al., 1996). Par la suite, dans même la région avec des enregistrements intracellulaires des pyramidales, il a été montré que l'ACPD (10min) induit une augmentation persistante du nombre de PA évoqués pour un même créneau de courant dépolarisant, résultant d'une réduction de l'amplitude de l'AHP lente et d'une réduction de l'adaptation (Cohen et al., 1999). Les deux sous types mGluR1 et mGluR5 ont été identifiés pharmacologiquement comme responsables de ce phénomène (Ireland and Abraham, 2002).

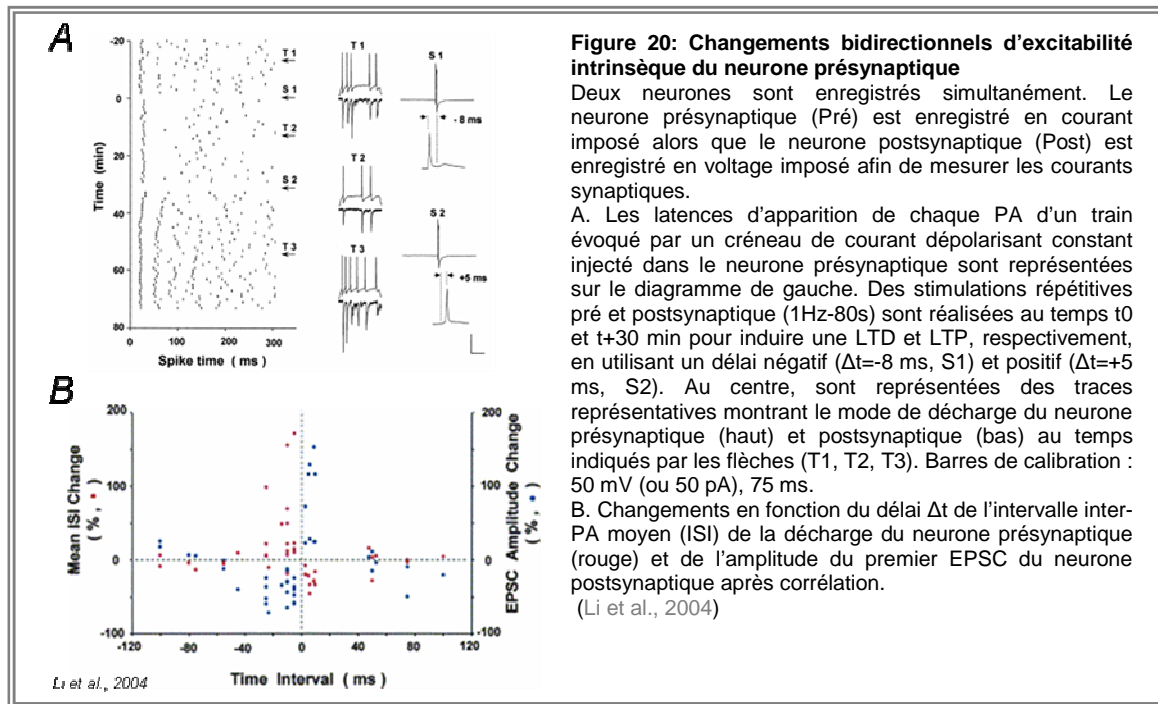
Dans les neurones pyramidaux de la couche V du néocortex, une brève activation synaptique ou pharmacologique des mGluR5 entraîne également une LTP-IE (Sourd et al., 2003). Cette LTP-IE est associée à une diminution persistante du courant I_{AHP} , qui elle même entraîne une potentialisation E-S. L'application d'apamine bloque l'induction de cette LTP-IE, indiquant qu'une diminution de la conductance potassique calcium-dépendante de type SK est à l'origine de ce phénomène. En plus d'une augmentation de la fonction entrée-sortie du neurone, la stimulation synaptique des mGluR5 augmente la précision temporelle de la décharge neuronale.

Les récepteurs kainate sont aussi impliqués dans l'induction de la plasticité synaptique, comme par exemple dans la LTP des synapses entre fibres moussues et cellules de CA3 (Contractor et al., 2001). Dans les cellules CA1, l'application de kainate (5-15 min) entraîne une augmentation de l'excitabilité neuronale consécutive à une diminution durable du courant lent AHP (Melyan et al., 2002; Melyan et al., 2004). L'inhibition de I_{AHP} via les récepteurs kainate, contenant très probablement la sous-unité GluR6, ne nécessite pas une activité ionotrope ou l'activité de réseau mais est bloquée par des inhibiteurs de PKC et de protéines G sensibles à la toxine pertussique.

1.4.2.2. Plasticité présynaptique

L'activité synaptique peut également déterminer le développement de l'excitabilité dans les neurones présynaptiques. Un des premiers exemples de régulation de l'excitabilité présynaptique, dépendant de l'activité reporté dans la littérature, a été observé au niveau des axones glutamatergiques de la région CA3 de l'hippocampe. La stimulation répétitive des collatérales de Schaffer (2 Hz) induit un abaissement à long terme de l'activation antidromique (McNaughton et al., 1994). Cet effet requiert l'activation des récepteurs NMDA et pourrait être un substrat présynaptique de la LTP. Toutefois, cet effet est dépendant de la température, présent à température ambiante mais absent pour des températures physiologiques (32°C). Cette forme de plasticité de l'excitabilité présynaptique pourrait donc ne pas être présente dans des conditions physiologiques.

Plus récemment, il a été montré dans des cultures de neurones d'hippocampe qu'un protocole d'appariement induisant de la LTP (appariement positif) entraîne également une augmentation rapide et persistante de l'excitabilité présynaptique associée à une diminution du seuil de déclenchement des PA et de la variabilité de l'intervalle entre les PA, dus à une modification de propriétés d'ouvertures des canaux sodiques (Ganguly et al., 2000). Cette augmentation d'excitabilité présynaptique nécessite l'activation des récepteurs NMDA postsynaptiques et met en jeu la protéine kinase C (PKC) présynaptique. Dans une seconde étude, il a été montré que la LTD induite par le même type protocole (STDP) est associée à une diminution d'excitabilité présynaptique. Cette diminution requiert une élévation du calcium postsynaptique et des modifications des canaux K^+ présynaptiques dépendants des protéines kinases A et C (Li et al., 2004). L'ensemble de ces travaux montrent que la corrélation des activités pré- et postsynaptiques peut induire des modifications bidirectionnelles de l'excitabilité présynaptique synergiques de celles observées pour la transmission synaptique (Figure 20). De tels changements présynaptiques requièrent la présence immédiate d'un messager rétrograde et une diffusion rapide de signaux cytosoliques dans le neurone présynaptique conduisant à une modification globale des canaux ioniques.



1.4.3. Plasticité homéostatique de l'excitabilité

Contexte

Une régulation de l'excitabilité intrinsèque existe donc en parallèle de la plasticité synaptique et agit de manière synergique. En raison des diverses mécanismes de plasticité et de modulations dont est sujet le neurone il apparaît évident de la nécessité de la présence d'autres mécanismes permettant au neurone de se maintenir dans des conditions normales de fonctionnement.

Un neurone tout comme au réseau neuronal doit maintenir un certain niveau d'activité et de connectivité pour assurer un maintien du transfert de l'information. Les évidences pour de tels mécanismes homéostatiques dans les neurones et circuits neuronaux sont plus en plus nombreuses (pour revue Turrigiano, 1999; Davis and Bezprozvanny, 2001; Turrigiano and Nelson, 2004; Schulz, 2006). Par exemple, chez la souris ou même la drosophile, la jonction neuromusculaire peut compenser une diminution de l'excitabilité postsynaptique en augmentant la libération des neurotransmetteurs afin de maintenir un niveau normal de dépolarisation dans le muscle (Petersen et al., 1997; Sandrock, Jr. et al., 1997). Cependant, ce n'est que très récemment que les mécanismes homéostatiques impliqués dans le contrôle de l'excitabilité intrinsèque ont été étudiés en détail.

Mise en évidence chez les invertébrés

Il est souvent admis que tous les neurones du même type cellulaire possèdent les propriétés intrinsèques identiques et ce intra- et inter-individus. Toutefois des travaux théoriques récents montrent que des activités neuronales similaires peuvent être obtenues par plusieurs combinaisons de conductances membranaires (Liu et al., 1998; Golowasch et al., 2002; Prinz et al., 2003; Prinz et al., 2004). Ceci a été confirmé par deux études récentes mesurant la variabilité des conductances, le niveau des protéines et des ARNm des canaux correspondants au sein d'un même neurone clairement identifié du ganglion somatogastrique chez le crabe (Schulz et al., 2006; Schulz et al., 2007). Dans les neurones pyloriques latéraux PL, une variabilité inter-animale d'un facteur 3 à 4 est observée pour trois courants potassiques alors que le pattern de décharge des neurones LP est très conservé d'un animal à l'autre. Cette variabilité résulte certainement de mécanismes compensatoires permettant au système nerveux de maintenir une fonction stable au cours du temps.

Il existe également des évidences provenant d'expériences où les effets compensatoires des conductances membranaires sont étudiés après modification de l'excitabilité neuronale. Dans les neurones du ganglion somatogastrique des crustacés, la surexpression des canaux responsables du courant I_A entraîne une importante augmentation de ce courant sans affecter de manière significative les propriétés de décharge du neurone (MacLean et al., 2003; MacLean et al., 2005). Ce maintien de l'activité neuronale résulte d'une augmentation concomitante du courant I_h , qui représente ici un mécanisme homéostatique indépendant de l'activité, afin de pallier à une augmentation drastique du courant I_A .

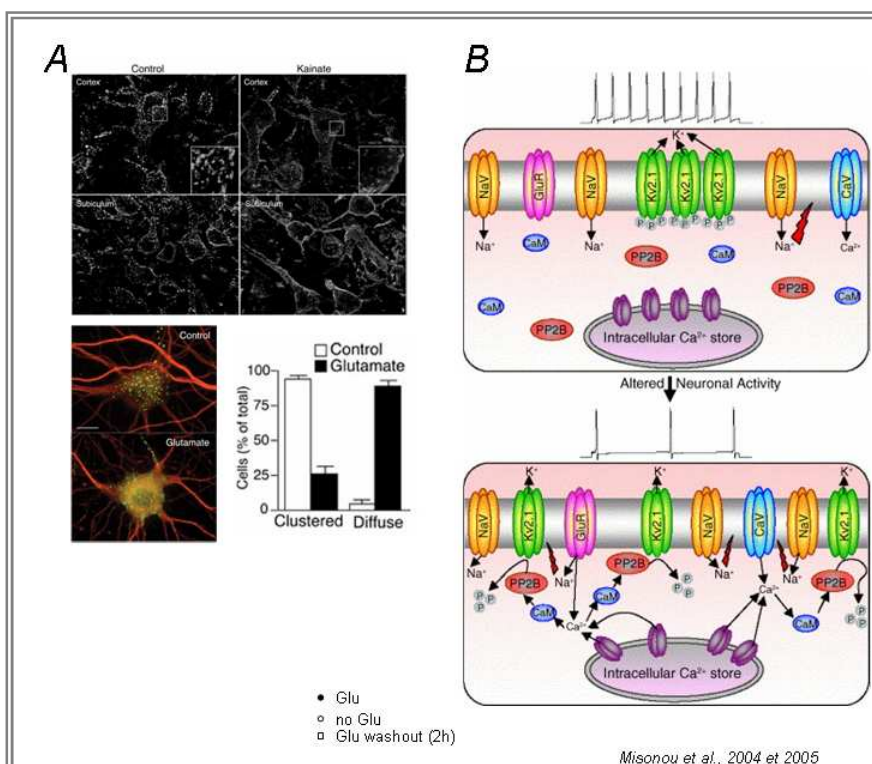
Chez les mammifères

Un effet similaire de compensation touchant des courants calciques serait mis en jeu dans les neurones des noyaux gris centraux (Etheredge et al., 2007). Les souris mutantes, avec une diminution des fonctions des canaux $Ca_v2.1$, possèdent une densité de courant calcique relativement normale, due à une augmentation du courant médiée par les canaux Ca_v1 .

Plusieurs études ont mis en avant la faculté des neurones à augmenter leur excitabilité en réponse à une diminution de leurs entrées synaptiques. Après une privation d'activité par application de TTX pendant 48h, les neurones pyramidaux du cortex visuel de rat en culture montrent une augmentation de leur fréquence de décharge en réponse à un même créneau de courant dépolarisant et un seuil de déclenchement des PA plus bas (Desai et al., 1999). Cette augmentation d'excitabilité intrinsèque est la conséquence d'une augmentation du courant I_{Na} et d'une diminution des courants potassique sensibles au TEA tels que I_{KCa} et Kir (rectifiant entrant retardé) alors que les courants potassiques non sensibles au TEA et I_A ne sont pas affectés. Une augmentation du courant I_{Na} , après suppression de l'activité, a également été reportée dans les tranches d'hippocampe en culture (Aptowicz et al., 2004) et dans les motoneurones chez la drosophile (Mee et al., 2004). Une étude récente *in vivo* confirme la présence d'une augmentation d'excitabilité dans l'hippocampe après suppression de

l'activité durant 48h (Echegoyen et al., 2007). Dans les premiers jours suivant une déafférentation partielle par lésion du cortex entorhinal (suppression de la voie perforante) le niveau des ARNm codant pour la sous-unité HCN1, ainsi que celui des protéines est fortement diminué dans l'hippocampe aussi bien dans les cellules granulaires, les neurones du hile, ainsi que dans toutes les couches des régions CA1 et CA3 (Brauer et al., 2001). Cette diminution est associée à une réduction du courant I_h due à un déplacement vers des valeurs plus dépolarisées de sa courbe d'activation. Ces changements ne sont que transitoires et correspondent à la phase dégénérescence antérograde des fibres avant la pousse de nouvelles collatérales d'axone et l'établissement de nouveaux contacts synaptiques permettant de rétablir l'équilibre de la balance excitation/inhibition. Enfin des changements de la conductance potassique voltage-indépendante sont observés à la suite de la suppression de l'activité tonique GABAergique dans les cellules en grain du cervelet afin de conserver un comportement neuronal normal (Brickley et al., 2001).

Inversement des mécanismes cellulaires tendant à diminuer l'excitabilité neuronale sont mis en jeu



pour faire face une élévation trop importante de l'activité excitatrice. L'augmentation de l'activité synaptique induite par l'application de l' α -latrotoxine ou de glutamate conduit à une augmentation calcium-dépendante du courant I_h dans les neurones CA1 de l'hippocampe (van Welie et al., 2004). Par ailleurs, l'augmentation artificielle de la conductance h par la technique du *Dynamic-Clamp* réduit le taux de décharge du neurone en réponse à un courant dépolarisant, démontrant ainsi que le neurone est capable de contrôler son niveau d'excitabilité en fonction de l'activité synaptique qu'il reçoit. De la même manière, la diminution de I_h observée après l'induction d'une forte LTP (~300%) par

TBP et qui est associée à une diminution globale d'excitabilité peut s'interpréter comme un phénomène compensatoire d'homéostasie de l'activité de réseau (Fan et al., 2005). L'activité neuronale peut également affecter la répartition et la fonction des canaux potassiques voltage-dépendants Kv2.1 via une modification de leur niveau de phosphorylation (Misonou et al., 2004; Misonou et al., 2005) (Figure 21). Les auteurs ont observé dans le modèle kainate (modèle animal d'épilepsie du lobe temporal), ainsi que dans des neurones d'hippocampe en culture après traités au glutamate, une perte de la répartition en agglomérats dans la membrane somatodendritique des canaux Kv2.1 au profit d'une répartition uniforme. Ce changement de répartition est dû à une déphosphorylation calcium-dépendante des canaux qui entraîne également une hyperpolarisation de la courbe d'activation du courant I_K médiée par ces canaux et donc un changement d'excitabilité neuronale (Surmeier and Foehring, 2004).

En conclusion, il existe donc dans le système nerveux en plus des différentes formes de plasticités cellulaires, supports de processus tels que l'apprentissage et la mémoire, des mécanismes qui permettent un maintien et une stabilisation des réseaux neuronaux au cours du temps.

1.4.4. Plasticité de l'excitabilité et épilepsie

L'excitabilité neuronale peut également être modifiée après un type d'activité particulière qui est l'activité épileptiforme. Les décharges épileptiques correspondent à une activité hautement synchronisée et à haute fréquence des neurones. Une augmentation de la fonction entrée-sortie des neurones est supposée être au cœur de cette hyperexcitabilité (pour revue Reyes, 2001). Un certain nombre de syndromes épileptiques d'origine génétique sont directement liés à des mutations des canaux ioniques (pour revue Kullmann, 2002; Noebels, 2003) mais des convulsions fébriles peuvent aussi résulter de changements affectant également les canaux. Les modifications de l'excitabilité résultant d'une activité épileptique peuvent être, elles-mêmes, pro-épileptiques (=processus synergique) ou anti-épileptiques (=processus homéostatique).

Après traitement des rats par un agoniste muscarinique, la pilocarpine, qui représente un modèle animal pour l'épilepsie très proche de l'épilepsie du lobe temporal chez l'homme, une augmentation du courant $I_{Ca,T}$ (Su & al 2002) et une diminution du courant dendritique I_A (Bernard & al 2004) sont observés. Dans un second modèle expérimental d'épilepsie, induite par hyperthermie chez le nouveau-né, un déplacement de la courbe d'activation vers des valeurs plus dépolarisées du courant I_h est observé dans les neurones pyramidaux de CA1 durant les 9 semaines suivantes (Chen et al., 2001) (Figure 22A). L'hybridation in situ, réalisée sur des tranches hippocampe de rats ayant eu des convulsions fébriles et montrant une altération du courant I_h , révèle une réduction des ARNm codant pour la sous-unité HCN1 et une augmentation de HCN2 (Brewster et al., 2002). Une étude au niveau

protéique révèle également une augmentation de la protéine HCN1 mais aussi une élévation de l'hétérodimérisation HCN1/HCN2 en comparaison avec des animaux contrôles (Brewster et al., 2005) (Figure 21A). Une conséquence fonctionnelle de cette altération de I_h est qu'un stimulus hyperpolarisant tel qu'un train de PPSI-GABA a plus de chance de déclencher des PA (=phénomène de rebond). Dans le cas de convulsions fébriles, ceci est particulièrement intéressant du fait que ces dernières entraînent aussi une potentialisation de l'inhibition GABA dans les pyramides de CA1 (Chen et al., 1999), ce qui serait de prime abord vu comme un processus anti-épileptique mais devient pro-épileptique quand il est associé à une diminution de I_h (Chen et al., 2001).

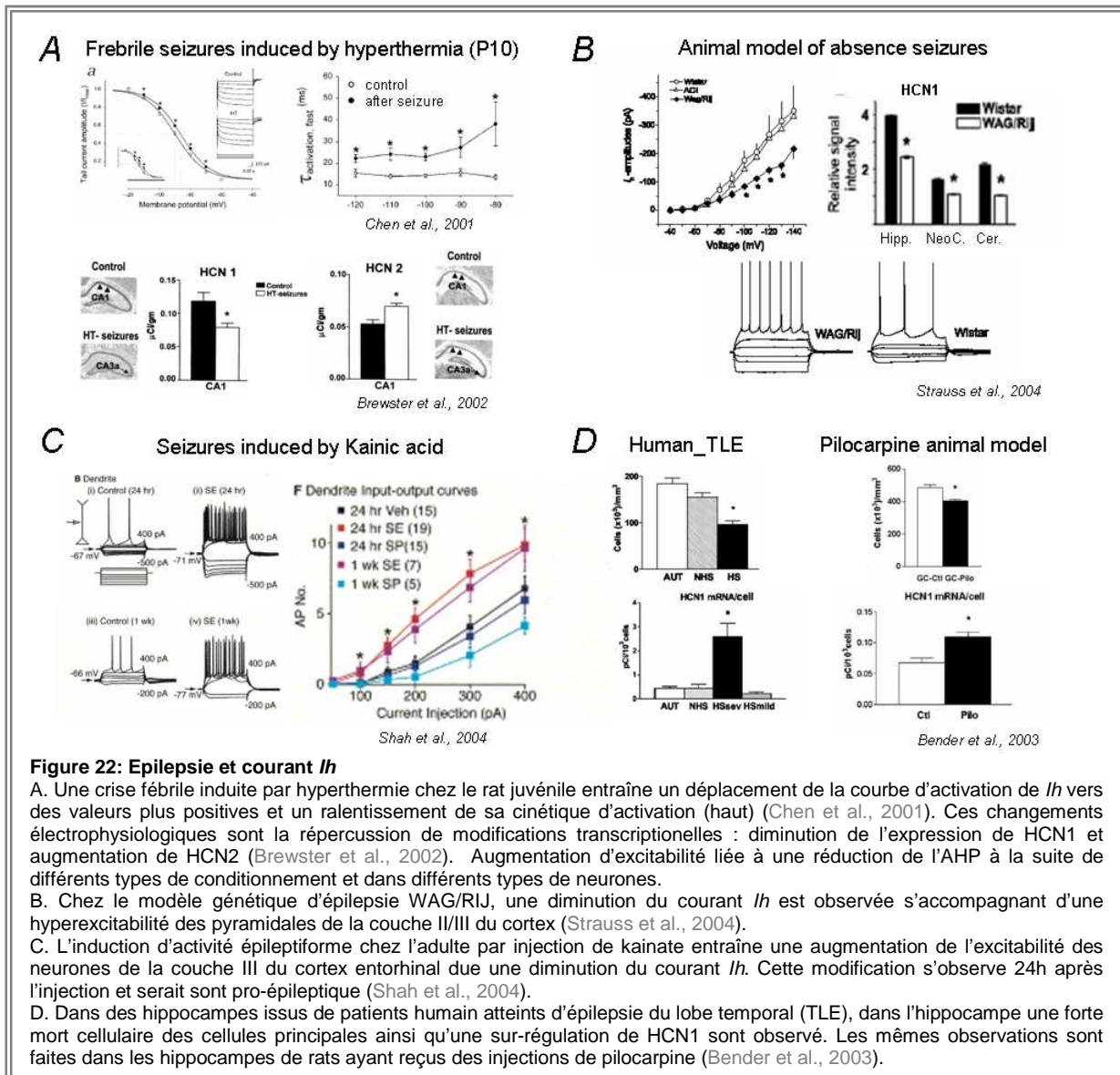


Figure 22: Epilepsie et courant I_h

A. Une crise fébrile induite par hyperthermie chez le rat juvénile entraîne un déplacement de la courbe d'activation de I_h vers des valeurs plus positives et un ralentissement de sa cinétique d'activation (haut) (Chen et al., 2001). Ces changements électrophysiologiques sont la répercussion de modifications transcriptionnelles : diminution de l'expression de HCN1 et augmentation de HCN2 (Brewster et al., 2002). Augmentation d'excitabilité liée à une réduction de l'AHP à la suite de différents types de conditionnement et dans différents types de neurones.

B. Chez le modèle d'épilepsie WAG/Rij, une diminution du courant I_h est observée s'accompagnant d'une hyperexcitabilité des pyramides de la couche II/III du cortex (Strauss et al., 2004).

C. L'induction d'activité épileptiforme chez l'adulte par injection de kainate entraîne une augmentation de l'excitabilité des neurones de la couche III du cortex entorhinal due une diminution du courant I_h . Cette modification s'observe 24h après l'injection et serait pro-épileptique (Shah et al., 2004).

D. Dans des hippocampes issus de patients humains atteints d'épilepsie du lobe temporal (TLE), dans l'hippocampe une forte mort cellulaire des cellules principales ainsi qu'une sur-régulation de HCN1 sont observés. Les mêmes observations sont faites dans les hippocampes de rats ayant reçus des injections de pilocarpine (Bender et al., 2003).

En revanche, une réduction du courant I_h , associée à une augmentation d'excitabilité, a été observée dans les neurones pyramidaux de la couche III du cortex entorhinal dans le modèle d'épilepsie induite par le kainate (Shah et al., 2004), de la couche II/III (Figure 22C) et de la couche V du néocortex dans un modèle génétique de rats présentant des convulsions fébriles (WAG/Rij) (Strauss et al., 2004; Kole et al., 2007) (Figure 22B) et de la région CA1 dans le modèle hypoxie (Zhang et al.,

2006). Là encore, la diminution du courant I_h est due à une diminution d'expression des protéines HCN1 (Strauss et al 2004) ou HCN1 et HCN2 (Shah & al 2004). Enfin, dans une autre étude, il a été montré un effet compensatoire de la modulation de I_h . Une augmentation des ARNm codant pour HCN1 et de l'expression des protéines HCN1 ont été observées dans des hippocampes sclérosés issus de patients humains ayant une épilepsie du lobe temporel ou de modèle pilocarpine de rats (Bender et al., 2003) (Figure 22D). L'expression des canaux HCN1 serait donc diminuée lors des processus précoces épileptogènes en raison de la conservation et de l'augmentation de l'inhibition sur les cellules principales. A l'inverse, après des crises épileptiques chroniques dans un hippocampe sclérosé, la profonde perte cellulaire associée à une réduction de l'inhibition entraînerait une augmentation de l'excitabilité dendritique des cellules principales survivantes via une augmentation compensatoire des ARNm HCN1 et de son expression.

1.4.5. Autres exemples de plasticité de l'excitabilité

Des plasticités de l'excitabilité peuvent également être induites par de larges dépolarisations du neurone. *Tsubokawa et collaborateurs* ont montré une plasticité de rétropropagation des PA activité-dépendante (Tsubokawa et al., 2000). Une facilitation de la rétropropagation d'un train de PA est observée dans les dendrites des pyramidales de CA1. Une augmentation persistante de l'excitabilité intrinsèque, à la suite de dépolarisations postsynaptiques produisant une décharge brève et haute fréquence dans le neurone, est aussi observée dans les neurones des noyaux profonds du cervelet (Aizenman and Linden, 2000), les pyramidales de la couche V du cortex visuel (Cudmore and Turrigiano, 2004) et du cortex entorhinal (Egorov et al., 2002). Cette plasticité dendritique est rapidement induite (~ 1min) et persiste au cours du temps (>25min). Elle requiert une élévation de la concentration en calcium postsynaptique et l'activation de la CaMKII (Tsubokawa et al., 2000). Le mécanisme responsable de cette diminution de l'atténuation des PA n'a pas été encore clairement identifié, même si il est très probable qu'il implique une réduction de courant potassique voltage-dépendant (Hoffman et al., 1997; Hoffman and Johnston, 1998; pour revue Schrader et al., 2002; Yuan et al., 2002). Une autre forme de plasticité intrinsèque très localisée a été reportée par Yasuda et collaborateurs (Yasuda et al., 2003). Dans cette étude, de brefs trains de PA rétropropagés diminuent l'influx de calcium provenant des canaux calciques de type R, évoqué par un PA rétropropagé au niveau d'épines dendritiques individuelles, sans affecter les canaux de dendrites parentes ou des épines voisines. L'induction au préalable de la dépression des canaux calciques bloque l'induction de la LTP, indiquant que les PA postsynaptiques peuvent moduler la plasticité synaptique via une régulation des canaux calciques localisés sur les épines.

Nous avons donc vu que la plasticité de l'excitabilité intrinsèque dépendante de l'activité neuronale a été mise évidence pour la première fois en réponse à un processus d'apprentissage chez les invertébrés puis chez les mammifères. Cette modification neuronale représente donc une nouvelle forme de stockage de l'information. Au niveau des synapses glutamatergiques et notamment entre les collatérales de Schaffer et les pyramidales de CA1 de l'hippocampe, la plasticité synaptique et non synaptique sont induites en parallèle et ont des effets synergiques. En effet, une tétanisation haute fréquence induit une LTP associée à une potentialisation E-S (Andersen et al., 1980; Daoudal et al., 2002) et réciproquement, une tétanisation basse fréquence induit une LTD associée à une dépression E-S (Daoudal et al., 2002). La règle BCM (Bienenstock-Cooper-Munro, 1982), établie pour la plasticité de la transmission synaptique, selon laquelle l'induction de la LTP/LTD dépend de la fréquence de stimulation des afférences, est donc valable également pour la plasticité de l'intégration. Il existe également une seconde règle décrite pour rendre compte des changements de l'efficacité synaptique, reposant sur la relation temporelle entre l'activité pré et postsynaptique (STDP). Est-ce que cette règle temporelle est également valide pour la plasticité de l'intégration ? Si oui, quels en sont les mécanismes d'induction ? Existe-il une spécificité dans les voies synaptiques impliquées comme ce qui été décrit pour la plasticité synaptique ?

La plasticité de l'intégration fait intervenir des régulations des conductances ioniques voltage-dépendantes présentes à la membrane neuronale. Nous essayerons donc de clarifier le rôle du courant I_h dans l'expression de la potentialisation de l'intégration. En effet, au vu de la littérature, il n'est aujourd'hui pas clair si le courant I_h est augmenté ou diminué après induction de la LTP dans les pyramides de CA1. Une forte dépolarisation postsynaptique des pyramides de CA1 entraîne une augmentation compensatoire de I_h (van Welie et al., 2004). I_h est aussi augmenté après induction de forte LTP par TBP (theta burst pairing, 300 % du PPSE contrôle (Fan et al., 2005)). A l'inverse, après une LTP induite par un protocole de STDP d'amplitude plus modérée (<80%), une augmentation de la résistance membranaire (plus importante au niveau dendritique qu'au niveau somatique (Xu et al., 2005)) ainsi qu'une augmentation de la sommation spatiale des PPSE partiellement bloquée par le ZD7288 (Wang et al., 2003) suggérant une réduction du courant I_h sont observées. Nous essaierons donc de clarifier le sens de la régulation du courant I_h associée à l'induction d'une LTP et pour cela nous utiliserons 3 types de protocoles induisant des LTP de magnitudes différentes : STDP, HFS et TBP.

A ce jour, peu de travaux se sont intéressés aux changements d'excitabilité intrinsèque des interneurones GABAergiques. Or, des changements d'excitabilité dans ces neurones

pourraient contribuer au maintien de l'homéostasie de l'activité des réseaux hippocampiques. Nous étudierons donc les changements d'excitabilité des interneurons de la région de CA1 dont le soma se situe dans, ou en bordure du *stratum pyramidale* à la suite d'une tétanisation à haute fréquence des collatérales de Schaffer.

2. MATERIEL et METHODES

2.1. Préparation des tranches et électrophysiologie

Les expériences sont réalisées sur des tranches d'hippocampe de rats Wistar âgés de 15 à 21 jours. Le rat est anesthésié par injection intrapéritonéale d'hydrate de chloral (400 mg/Kg). Après décapitation, le cerveau est rapidement prélevé et les hippocampes disséqués (1 min). Lors de cette opération, le cerveau est régulièrement arrosé de solution physiologique de "coupe" sans sodium à +4°C (en mM : 280 sucrose, 26 NaHCO₃, 10 D-glucose, 10 MgCl₂, 1.3 KCL, 1 CaCl₂ et 1 kynurénate; oxygénée avec du carbogène 95%O₂-5%CO₂; avec un pH de 7.4). Ainsi toute activité électrique des neurones est stoppée pendant la dissection. La partie centrale de l'hippocampe (environ 5 mm) est isolée puis collée sur une platine. L'hippocampe est sectionné en tranches de 350-400 µm d'épaisseur avec un vibratome (Leica VT 1000S). Les tranches sont ensuite conservées pendant une heure dans une solution de perfusion oxygénée à température ambiante ou à 37°C pour les expériences d'enregistrements dendritiques afin d'améliorer la visibilité dans les tranches. Cette solution a pour composition en mM : 125 NaCl, 26 NaHCO₃, 3 CaCl₂, 2.5 KCL, 2 MgCl₂, 0.8 NaH₂PO₄, 10 D-glucose et du sérum fœtal de veau (SFV, 4%). Elles sont ensuite transférées et conservées tout au long de l'expérience dans la solution de perfusion (sans SFV).

Pour chaque expérience, la région CA1 est chirurgicalement isolée du reste de l'hippocampe, puis transférée dans la chambre d'enregistrement perfusée avec la solution sans SFV. La tranche est maintenue en immersion au fond de la chambre par un treillis de nylon tendu sur un "U" de platine. Elle est visualisée sous microscope droit (Olympus BX 50WI) à contraste de phase (DIC) par vidéomicroscopie infrarouge à l'aide d'un objectif à immersion x40 ou x60.

Les enregistrements sont réalisés sur les neurones pyramidaux de la région CA1 ainsi que des interneurones, identifiés selon des critères de position, de morphologie et électrophysiologiques (mode de décharge) en utilisant la technique du patch-clamp en configuration "cellule entière".

Les pipettes de patch (soma : 6-12 MΩ, dendrite : 12-20MΩ) sont fabriquées également à partir des capillaires de verre borosilicaté avec une étireuse verticale (Narishige type PB-7). Elles sont ensuite remplies avec une solution contenant en mM : 120 gluconate de potassium, 20 KCl, 10 HEPES, 2 Na₂-ATP, 2 MgCl₂, 0.5 EGTA et 6 H₂O. Le pH est ajusté à 7.4 avec du KOH 1N et son osmolarité est ajustée à 290 mOsm.

L'approche fine de la pipette sur la membrane du neurone à enregistrer est réalisée à l'aide d'un micromanipulateur (Luigs et Neumann) sous contrôle visuel. Les double enregistrements soma/dendrite ne sont réalisés que sur des cellules où il est possible de suivre la dendrite apicale depuis la soma jusqu'au point d'enregistrement dendritique. Le site de localisation du patch dendritique correspond généralement à un point de branchement. La configuration "cellule attachée" est réalisée en premier sur le soma, le patch dendritique est réalisé en dernier. L'approche de

l'électrode dendritique se fait de minutieusement avec une pression positive plus faible que celle requise pour le soma et nécessite une grande stabilité de l'électrode de patch (Davie et al., 2006). Une fois la configuration cellule entière obtenue, les neurones présentent une résistance de série comprise entre 15 et 35 M Ω .

Une électrode de stimulation remplie de solution de perfusion est placée dans le *stratum radiatum* de la région CA1 afin d'activer les fibres collatérales de Schaffer. Les électrodes de stimulation sont élaborées avec une étireuse horizontale (Sutter Instrument) à partir de capillaires de verre borosilicaté (OD 1.5 mm, ID 0.83 mm). L'extrémité de la microélectrode est cassée sous contrôle microscopique afin d'obtenir une pointe de 10-15 μ m de diamètre. Les bords sont ensuite polis par chauffage à la microforge. Les stimuli sont délivrés et contrôlés par un stimulateur digital (NEURO DATA PG4000, Instruments corp.) associé à une unité d'isolement (WPI A360) à une fréquence de 0,1 Hz. Concernant les expériences de STDP et de plasticité du couplage E-S, l'intensité des stimuli (80-180 μ s, 40-100 μ A) est ajustée pour évoquer un PPSE supra-liminaire (=qui déclenche un PA) dans 20-30% en conditions contrôles.

Induction de la LTP et de LTD

Trois protocoles ont été utilisés pour induire la LTP.

Protocole 1 : appariement à délai positif (STDP). La LTP est induite en appariant un PPSE avec un PA à 0.33 Hz (100 répétitions). Le PPSE est généré par l'électrode de stimulation extracellulaire et le PA par l'injection d'un bref créneau de courant dépolarisant (3-5 ms, 300-800 pA). Le délai Δt utilisé est compris entre +5 et +50 ms.

Protocole 2 : téτανisation haute fréquence (HFS), qui consiste en une série de 10 trains de 10 stimulations à 100Hz. Les trains sont délivrés à une fréquence de 0.3 Hz.

Protocole 3 : theta burst paring (TBP). La LTP est induite par l'appariement de stimulation synaptique sous-liminaire avec des PA rétropropagés à la fréquence thêta (5 Hz). Une séquence de dix trains composés de 5 PPSE couplés à des PA rétropropagés (avec un délai de 5 ms entre) à 100 Hz, chaque train étant séparés de 200 ms, est répétée 3 fois.

La LTD est induite avec un protocole de STDP similaire à celui utilisé pour induire la LTP (protocole 1) mais avec délai Δt négatif compris entre -5 et -50 ms, entre le PPSE et la PA.

Pharmacologie

Toutes les expériences ont été réalisées en présence de picrotoxine (PiTX, 100 μ M) dans le milieu extracellulaire de perfusion afin de bloquer l'inhibition GABA_A. Toutes les drogues ont été appliquées dans le milieu extracellulaire de perfusion (pour les détails se référer à la section Material and Methods de chacun des articles).

2.2. Acquisition des données et analyse

Les enregistrements en patch-clamp dans les tranches sont visualisés sur un oscilloscope numérique (Nicolet). Les signaux de courant et voltage sont filtrés à 3 KHz (filtre passe bas) et enregistrés en mode "bridge" (Axoclamp 2B, Axon instruments, Foster City, US). Les enregistrements sont effectués avec les compensations du bridge et de la capacité appropriées, et sont abandonnés si la résistance de série excède 30 M Ω . L'acquisition de ces signaux est réalisée, après amplification, sur un micro-ordinateur (Logiciels Acquis1, Biologic, Orsay, France ; DAAD, N.Ankri, INSERM U641 ; pClamp version 8) par l'intermédiaire d'une carte d'acquisition (Axon-Instruments, Digi data 1200). Les données sont ensuite analysées avec IGOR version 5 et 6 (WaveMetrics, Lake Oswego, OR).

Etude du couplage E-S et la relation Amplitude/Pente

Le test du couplage E-S avant et après le protocole d'appariement correspond à la configuration du protocole d'induction de LTP par appariement positif ($\Delta t = 13 \pm 1$ ms, $n = 13$). Cependant, le nombre de PPSE supra-liminaire durant les périodes contrôles (20 ± 3 pour les expériences d'appariements positifs, 24 ± 4 pour les négatifs) n'est pas suffisant pour induire un changement significatif de la transmission synaptique (Figure suppl.1 de l'article 1).

Construction de la courbe E-S : la pente initiale des PPSE est mesurée sur 2 ms, puis les différentes valeurs obtenues sont regroupées en classe de 0.2-0.5 mV/ms. Pour chacune des classes la probabilité de déclenchement d'un PA est calculée. Cette probabilité est ensuite exprimée en fonction de la pente ainsi classée.

La comparaison du couplage est faite entre les moyennes des probabilités E-S avant et après protocole. Les valeurs d'une classe sont comptabilisées dans les moyennes si au moins l'une des deux probabilités est non nulle.

La relation Amplitude/Pente (Ampl/Pente) des PPSE est étudiée afin d'estimer les changements d'amplification des PPSE. Dans majorité des cas (175/182), la relation Ampl/Pente suit une régression linéaire ($p \leq 0.01$, R^2 moyen=0.65). Comme pour le couplage E-S l'amplitude moyenne est calculée pour chaque classe de PPSE.

Les résultats présentés sont exprimés en pourcentage du contrôle et en moyenne du pourcentage du contrôle \pm sem. Les tests non paramétriques de Mann-Whitney et Wilcoxon ont été utilisés pour les comparaisons.

2.3. Modèle du courant I_h et courant imposé en temps réel

Un modèle de la conductance h (G_h) a été développé selon formalisme Hodgkin-Huxley. Le courant I_h est donné par l'équation $I_h = G_h(V_m - E_h)$ où :

V_m = potentiel de membrane, mesuré par l'électrode de patch

E_h = potentiel d'inversion du courant I_h ($E_h = -37.7$ mV, déterminé expérimentalement)

G_h = conductance dépendante du temps, du potentiel et des constantes cinétiques d'ouverture et de fermeture ces canaux.

Les constantes de temps d'activation et de désactivation ont été déterminées par ajustement des données expérimentales (pour détail voir Material and Methods de l'article 2 Hebbian-like regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP, §3.2.).

Un système de courant imposé en temps réel (*Fast Dynamic Clamp*) a été développé afin d'ajouter ou de soustraire une conductance h artificielle dans les neurones pyramidaux de CA1 (Sharp et al., 1993; Prinz et al., 2004; Carlier et al., 2006). Il est piloté le programme Labview RT, un microprocesseur (PXI1002, National Instrument), un réseau logique programmable (*Field Programmable Gate Arrays* ou FPGA PXI-7831R) et un ordinateur. La mise au point de ce système a été réalisée par N. Ankri (INSERM U641).

Le modèle a été validé en additionnant et soustrayant la conductance h dans les neurones pyramidaux de CA1. Un boîtier digital de commande externe (PIC-16F876A (Microchip®)) est utilisé pour l'ajustement des valeurs de G_h au cours des expériences.

3. RESULTATS

3.1. Article 1 : Spike timing-dependent plasticity: a learning rule for dendritic integration in rat CA1 pyramidal neurons.

Campanac E & Debanne D

J Physiol 586:779-793

Spike timing-dependent plasticity: a learning rule for dendritic integration in rat CA1 pyramidal neurons

Emilie Campanac^{1,2} and Dominique Debanne^{1,2}

¹INSERM U641 and ²Université de la Méditerranée, Faculté de médecine secteur nord, IFR 11, Marseille, F-13916, France

Long-term plasticity of dendritic integration is induced in parallel with long-term potentiation (LTP) or depression (LTD) based on presynaptic activity patterns. It is, however, not clear whether synaptic plasticity induced by temporal pairing of pre- and postsynaptic activity is also associated with synergistic modification in dendritic integration. We show here that the spike timing-dependent plasticity (STDP) rule accounts for long-term changes in dendritic integration in CA1 pyramidal neurons *in vitro*. Positively correlated pre- and postsynaptic activity (delay: +5/+50 ms) induced LTP and facilitated dendritic integration. Negatively correlated activity (delay: −5/−50 ms) induced LTD and depressed dendritic integration. These changes were not observed following positive or negative pairing with long delays ($> \pm 50$ ms) or when NMDA receptors were blocked. The amplitude–slope relation of the EPSP was facilitated after LTP and depressed after LTD. These effects could be mimicked by voltage-gated channel blockers, suggesting that the induced changes in EPSP waveform involve the regulation of voltage-gated channel activity. Importantly, amplitude–slope changes induced by STDP were found to be input specific, indicating that the underlying changes in excitability are restricted to a limited portion of the dendrites. We conclude that STDP is a common learning rule for long-term plasticity of both synaptic transmission and dendritic integration, thus constituting a form of functional redundancy that insures significant changes in the neuronal output when synaptic plasticity is induced.

(Resubmitted 19 October 2007; accepted after revision 26 November 2007; first published online 29 November 2007)

Corresponding author D. Debanne: Université de la Méditerranée, Faculté de médecine secteur nord, IFR 11, Marseille, F-13916, France. Email: dominique.debanne@univmed.fr

OnlineOpen: This article is available free online at www.blackwell-synergy.com

Activity-dependent plasticity of intrinsic neuronal excitability was originally described in invertebrates but has also been reported under different experimental conditions in many mammalian neurons (review in Hansel *et al.* 2001; Zhang & Linden, 2003; Daoudal & Debanne, 2003a). It is a persistent form of neuronal modification that might encode novel information to modify a behaviour. However, it is not yet clear whether intrinsic plasticity corresponds to an additional level of plasticity that makes understanding of information storage in the brain more complex or rather if it can be incorporated into a *general framework* in which *synaptic* and *non-synaptic* plasticity interact coherently and harmoniously. To address this major question it is important to define the learning rules of intrinsic plasticity and the nature of its interaction with synaptic plasticity.

In the hippocampus, homosynaptic long-term synaptic potentiation (LTP) induced by high-frequency presynaptic

stimulation is associated with enhanced firing probability of the postsynaptic neurons in response to a given excitatory synaptic input (Bliss & Lomo, 1973; Bliss *et al.* 1973; Andersen *et al.* 1980; Abraham *et al.* 1987). This component has been called EPSP-to-spike potentiation (E–S potentiation) which is complementary to synaptic potentiation and functionally important. E–S potentiation is partly independent of GABA_A and GABA_B receptor-mediated synaptic inhibition (Daoudal *et al.* 2002; Staff & Spruston, 2003; Marder & Buonomano, 2003), indicating that E–S potentiation may involve long-lasting modulation of intrinsic voltage-gated conductances. GABA receptor-independent E–S potentiation is input specific (Hess & Gustafsson, 1990; Daoudal *et al.* 2002), suggesting that the underlying changes in excitability might be restricted to a small region of the dendrites. In accordance with the Bienenstock *et al.* (1982) theory of synaptic modification (or BCM rule), low-frequency presynaptic stimulation (1–5 Hz) produced long-term synaptic depression (LTD) (Artola *et al.* 1990; Dudek & Bear, 1992; Mulkey & Malenka, 1992). Most

This paper has online supplemental material.

importantly, this form of LTD is associated with a GABA receptor-independent and input-specific depression in E–S coupling in CA1 pyramidal neurons (Daoudal *et al.* 2002). Thus, the BCM learning rule is valid for both synaptic changes and plasticity of dendritic integration in the hippocampus.

Synaptic plasticity is also induced associatively in hippocampal and cortical neurons. Based on Hebbian learning rules, positively correlated pre- and postsynaptic spiking activity (pre before post) leads to the induction of LTP (Gustafsson *et al.* 1987) whereas negative correlation (post before pre) induces LTD (Debanne *et al.* 1994, 1996, 1998; Markram *et al.* 1997; Bi & Poo, 1998; Feldman, 2000; review in Dan & Poo, 2006). Changes in intrinsic excitability have been reported following LTP induced by STDP-like protocols (Jester *et al.* 1995; Wang *et al.* 2003; Frick *et al.* 2004; Xu *et al.* 2005; Fan *et al.* 2005). However, it is not yet clear whether plasticity of dendritic integration follows the temporal specificity of the STDP learning rule and respects the input specificity conveyed by synaptic plasticity. We show here that positive correlation between pre- and postsynaptic activity induced LTP and facilitated dendritic integration (E–S potentiation) in CA1 pyramidal neurons whereas negative correlation induced LTD and depressed dendritic integration (E–S depression). These changes in dendritic integration required NMDA receptor activation and are input specific. Our data demonstrate that STDP is a common learning rule for both synaptic plasticity and plasticity of dendritic integration. Thus, the synergistic modifications in dendritic integration observed after LTP or LTD induction might represent a mechanism of functional redundancy that insures significant changes in the neuronal output when synaptic plasticity is induced.

Some of these results have been published previously in abstract form (Campanac & Debanne, 2006).

Methods

Slice preparation and electrophysiology

The methods have been detailed previously (Daoudal *et al.* 2002). Hippocampal slices (350–400 μm) were prepared from postnatal day 15–20 Wistar rats. All experiments were carried out according to the European and institutional guidelines for the care and use of laboratory animals (Council Directive 86/609/EEC and French National Research Council). Rats were deeply anaesthetized with chloral hydrate (intraperitoneal, 200 mg kg^{-1}) and killed by decapitation. Slices were cut in a sodium-free solution (mm: sucrose, 280; NaHCO_3 , 26; D-glucose, 10; KCl, 1.3; CaCl_2 , 1; MgCl_2 , 10). The slices were maintained for 1 h at room temperature in oxygenated (95% O_2 –5% CO_2) artificial cerebrospinal fluid (ACSF; (mm): NaCl, 125; KCl, 2.5; NaH_2PO_4 , 0.8; NaHCO_3 , 26; CaCl_2 , 3; MgCl_2 , 2; D-glucose, 10). Each

slice was transferred to a temperature-controlled (29°C) recording chamber with oxygenated ACSF. Neurons were visualized in DIC infrared (IR)-videomicroscopy for patch-clamp experiments. In all experiments, the GABA_A receptor channel blocker picrotoxin (PiTX, 100 μM) was applied. The area CA1 was surgically isolated to prevent epileptiform bursting. Whole-cell patch-clamp recordings were obtained from CA1 pyramidal cells. The electrodes were filled with an internal solution containing (mm): potassium gluconate, 120; KCl, 20; Hepes, 10; EGTA, 0.5; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2; Na_2ATP , 2. Glass stimulating electrodes filled with extracellular saline were placed in the stratum radiatum. In control and test conditions, EPSPs were evoked at 0.1 Hz. The stimulus intensity (80–180 μs , 40–100 μA) was adjusted to evoke EPSPs that elicited postsynaptic spikes in $\sim 30\%$ of cases. LTP and LTD were induced by the repetitive association of an EPSP and a postsynaptic spike (at 0.33 Hz). The EPSP was generated by extracellular stimulation of the Schaffer collaterals and the spike by the injection of a positive step of current (300–800 pA, 3–5 ms). The temporal relation between the EPSP and the spike (Δt , measured between the onset of the EPSP and the peak of the spike) determined the sign of the synaptic plasticity. Positive pairing (Δt : +5/+50 ms, 100 repetitions) induced LTP, whereas negative pairing (Δt : –5/–50 ms, 150 repetitions) induced LTD. The number of repetitions was not equal because LTD usually requires a large number of stimulations to produce a sustained and moderate elevation in postsynaptic calcium concentration whereas LTP can be induced with a limited number of stimulations that cause a brief and nearly maximal postsynaptic calcium elevation. The test of E–S coupling during pre- and postconditioning periods corresponds to the positive correlation protocol ($\Delta t = 13 \pm 1$ ms, $n = 13$). However, the number of supra-threshold EPSPs during the control period (20 ± 3 for positive correlation experiments and 24 ± 4 for negative correlation experiments) was not sufficient to produce a significant change in synaptic transmission. We show that 25 positive pairings with a delay of 13 ms between the EPSP and the postsynaptic spike did not significantly affect the EPSP slope (see online Supplemental Fig. 1).

Drugs were bath applied. PiTX, 4-AP (4-aminopyridine), riluzole, CsCl and D-AP5 (D-(–)-2-amino-5-phosphonopentanoic acid) were purchased from Sigma and ZD-7288 was obtained from Tocris. Riluzole (6 μM) reduced postsynaptic firing, confirming its action on sodium channels (Urbani & Belluzzi, 2000). ZD-7288 has been shown to have presynaptic effects at concentrations greater than 10 μM (Chevalleyre & Castillo, 2002). The low concentration used here (1 μM) did not affect the synaptic strength but efficiently blocked postsynaptic I_h indicating that ZD-7288 had no major presynaptic effect in our experiments. In addition to its major effect on I_h , Cs^+ also

blocks inward rectifier K^+ (Kir) currents (Thompson *et al.* 2000). However, the effects of Cs^+ or ZD were comparable and could be perfectly mimicked by local reduction in the h-conductance (E. Campanac, N. Ankri & D. Debanne, unpublished observations). Furthermore, Kir2.1 channels are only weakly expressed in CA1 neurons (Prüss *et al.* 2005). 4-AP is not specific to the A-type K^+ current (Storm, 1988) but it effectively blocks the transient A-current in CA1 pyramidal neurons and enhances EPSP amplitude (Hoffman *et al.* 1997).

Data acquisition and analysis

Electrophysiological recordings were obtained using an Axoclamp 2B amplifier, Acquis1 software (Bio-Logic, Orsay, France) or pCLAMP version 8 and 9. Data were analysed with IGOR version 5.03 (WaveMetrics, Lake Oswego, OR, USA). Pooled data are presented as either mean \pm s.e.m. or box plots and statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U test or the paired t test of Student.

E–S coupling was represented by the firing probability as a function of the EPSP slope. EPSP slopes measured during the first 2 ms were sorted in 0.2 – 0.5 mV ms $^{-1}$ bins. The firing probability was determined for each bin. Changes in E–S coupling were quantified by expressing the mean firing probability after pairing as a percentage of the mean firing probability in the control period. In two neurons, the mean firing probability was 0 before pairing, thus E–S coupling in these cells was arbitrarily set to the mean E–S potentiation (194%) calculated from the other data points. To confirm this analysis, the E–S shift for a firing probability of 50% has also been analysed (Staff & Spruston, 2003). Since the intensity was kept constant during the experiment, the E–S curves were not always complete. Therefore the number of cells where the E–S shift could be measured was slightly reduced.

The amplitude/slope (A/Slp) relation of the EPSP was studied to assess the change in EPSP amplification. To quantify the change in A/Slp , EPSP slopes were sorted in 0.2 – 0.5 mV ms $^{-1}$ bins and the mean EPSP amplitude was calculated for each bin. The change value of each cell was obtained by averaging the normalized EPSP amplitude corresponding to each class of EPSP slope. A linear fit was performed for each group of data to facilitate the estimation of the A/Slp change in the figures. The spike threshold was determined as the voltage corresponding to the time where the derivative exceeded 10 mV ms $^{-1}$.

Results

Bidirectional long-term plasticity of E–S coupling associated with STDP

All the experiments were performed in the presence of 100 μ M PiTX to block GABA $_A$ receptor-mediated

inhibition. To avoid epileptiform activity, the CA1 region was surgically isolated. Stable whole-cell patch-clamp recordings were obtained from CA1 pyramidal neurons. Positive pairing with short delays ($+5 < \Delta t < +50$ ms) induced a stable potentiation of the EPSP slope (Fig. 1A; $129 \pm 6\%$ of the control, $n = 29$). Dendritic integration was evaluated before and after pairing by plotting the probability of spiking *versus* EPSP slope. After positive pairing, the EPSP–spike (E–S) curve was shifted towards the left and the firing probability was increased for a given EPSP slope, attesting to E–S potentiation (Fig. 1B). On average, the E–S potentiation was $194 \pm 21\%$ of the control; $n = 11$) and the mean E–S shift was -0.23 ± 0.06 mV ms $^{-1}$ ($n = 10$). No change in the input resistance tested with a brief hyperpolarizing pulse (50 ms; -20 pA) was observed after the induction of LTP and E–S potentiation (Fig. 1A; $101 \pm 1\%$, $n = 29$).

Negative pairing with a delay between -50 and -5 ms (150 repetitions) induced LTD (Fig. 1C; $82 \pm 3\%$, $n = 25$) and decreased E–S coupling (Fig. 1D). After negative pairing, E–S coupling was $71 \pm 14\%$ ($n = 14$) of the control and the mean E–S shift was $+0.11 \pm 0.01$ mV ms $^{-1}$ ($n = 9$). These changes were significantly different from those obtained after short positive correlation (Mann–Whitney U test: EPSP slope, $P < 0.01$; E–S coupling, $P < 0.001$; and E–S shift, $P < 0.01$). No change in the input resistance was observed after the induction of LTD and E–S depression (Fig. 1C; $101 \pm 1\%$, Mann–Whitney U test, $P > 0.1$, $n = 25$). Our results indicate that E–S plasticity is induced in parallel and in synergy with synaptic plasticity.

Temporal dependence of long-term plasticity of E–S coupling

Synaptic plasticity precisely depends on the timing between pre- and postsynaptic activities and synaptic efficacy is not affected for long positive or negative intervals (Debanne *et al.* 1998; Bi & Poo, 1998; Feldman, 2000). We have therefore examined whether E–S coupling was affected by pairing protocols with long positive or negative delays ($> \pm 50$ ms). We observed that positive correlation with long delay ($\Delta t > +50$ ms) failed to induce LTP ($106 \pm 4\%$, $n = 4$; Fig. 2A) and did not affect E–S coupling ($105 \pm 6\%$ of the control; $n = 3$; Fig. 2B). Neither LTD ($101 \pm 3\%$, $n = 8$; Fig. 2C) nor E–S depression ($111 \pm 9\%$ of the control E–S coupling, $n = 4$; Fig. 2D) were observed with a delay greater than -50 ms. In contrast with short delays, there was no differential changes for long positive or long negative intervals (Mann–Whitney U test: EPSP slope, $P > 0.5$ and E–S coupling, $P > 0.5$). Most importantly, the time-windows for synaptic and E–S plasticity were virtually identical (Fig. 3A and B). Moreover, E–S

potentiation was found to occur when the EPSP was potentiated whereas E–S depression was concomitant with synaptic depression (Fig. 3C), indicating that both types of plasticity are functionally synergistic. We conclude that E–S plasticity in CA1 pyramidal neurons follows the STDP rule initially established for synaptic transmission.

E–S plasticity associated with STDP requires NMDA receptor activation

In the CA1 region of the hippocampus, E–S potentiation and depression require NMDA receptor activation

(Daoudal *et al.* 2002). We therefore tested whether long-term plasticity of E–S coupling induced by STDP protocols also depended upon activation of these receptors. In the presence of D-AP5 ($50\text{ }\mu\text{M}$), positive correlation of pre- and postsynaptic activity failed to induce LTP ($94 \pm 2\%$, $n = 5$) and E–S potentiation ($77 \pm 14\%$ of the control coupling, Fig. 4A). Similarly, NMDA receptor activation was necessary for inducing long-term E–S depression with negative pairings. In the presence of $50\text{ }\mu\text{M}$ D-AP5, neither LTD ($98 \pm 3\%$, $n = 11$), nor E–S depression were observed ($117 \pm 14\%$ of the control E–S coupling, Fig. 4B). These results are

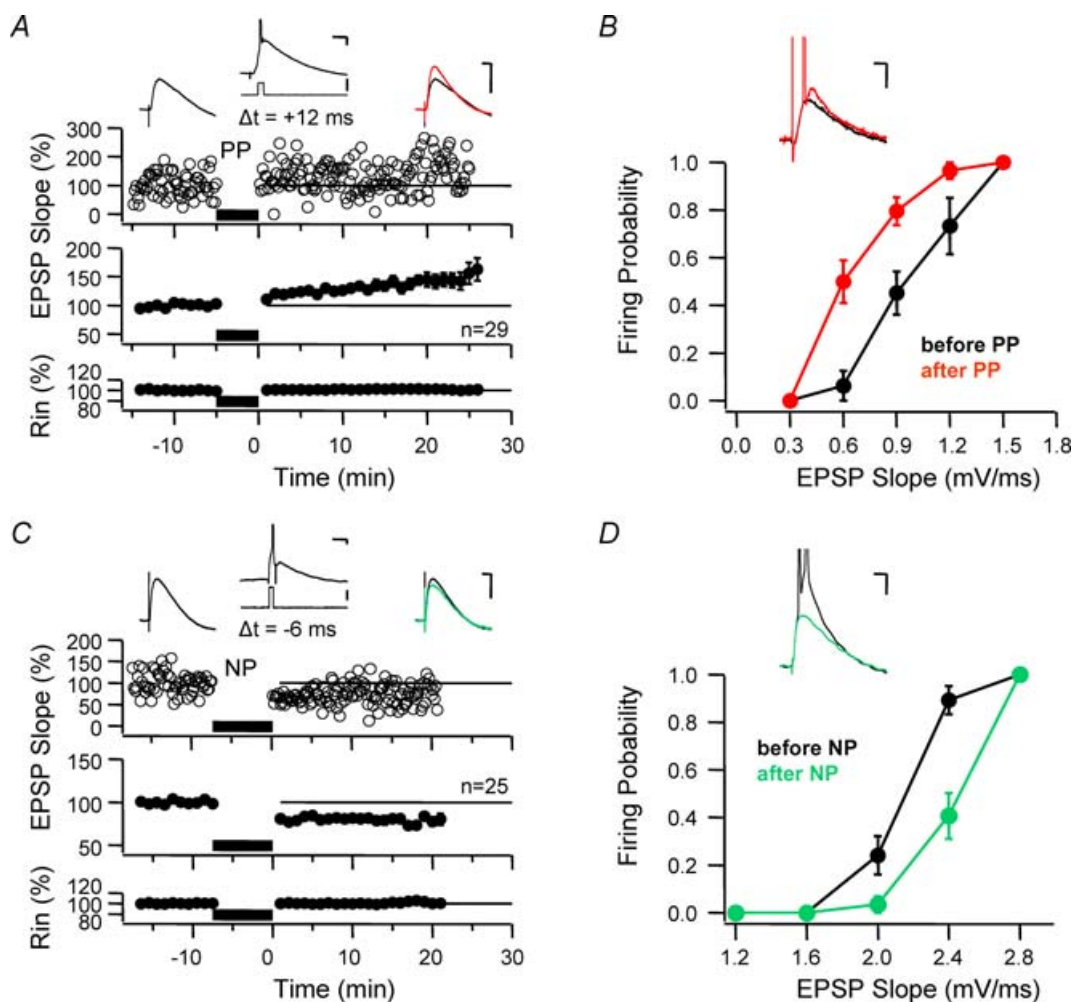


Figure 1. Bi-directional plasticity of dendritic integration associated with spike timing-dependent synaptic plasticity

A, induction of LTP with short positive pairing (PP, inset). Upper graph, time-course of the EPSP slope measured on individual responses in a single experiment (delay: +12 ms). Middle graph, EPSP slope pooled over 29 experiments. Lower graph, normalized input resistance (Rin) pooled over 29 experiments. B, facilitation in dendritic integration following induction of LTP with a short PP (delay: +12 ms). Plot of the firing probability as a function of EPSP slope before and after LTP induction (neuron from panel A). Error bars correspond to s.e.m. E–S shift is -0.38 mV ms^{-1} . C, induction of LTD with short negative pairing (NP, inset). The general organization is similar to A (upper graph, single experiment, middle and lower graphs time-courses of EPSP slope and Rin over 23 experiments, respectively). D, depression in dendritic integration following induction of LTD with a short NP (–6 ms). Plot of the firing probability as a function of EPSP slope before and after LTD induction. Scale bars 20 ms, 5 mV, 200 pA. In this example, E–S shift was $+0.31\text{ mV ms}^{-1}$.

significantly different from those obtained in the absence of D-AP5 (Mann–Whitney U test, $P < 0.05$). Therefore, we conclude that long-term E–S potentiation and depression induced by STDP protocols require activation of NMDA receptors.

No change in spike threshold

In cerebellar granule cells, facilitation of EPSP–spike coupling associated with LTP results from a reduction in the spike threshold (Armano *et al.* 2000). Similarly, the increased excitability observed after STDP-induced LTP in CA1 pyramidal neurons is associated with a hyperpolarization of the spike threshold (Xu *et al.* 2005). We therefore analysed whether the threshold of the

action potential (AP), defined as the voltage where dV/dt exceeded 10 mV ms^{-1} , was altered after positive or negative correlation. No differential modification in the threshold was observed when LTP or LTD was induced with short positive or negative correlation, respectively (variation in the threshold: $-0.48 \pm 0.23 \text{ mV}$ $n = 7$ for $+5/+50 \text{ ms}$ versus $-0.61 \pm 0.32 \text{ mV}$ $n = 11$ for $-5/-50 \text{ ms}$, Mann–Whitney U test $P > 0.05$). Thus, changes in EPSP–spike coupling cannot be accounted for by a modification in the AP threshold measured at the cell body and other mechanisms should be envisaged.

Changes in the amplitude/slope relation of the EPSP

Alternatively, E–S changes may result from a change in EPSP amplification under the control of voltage-gated

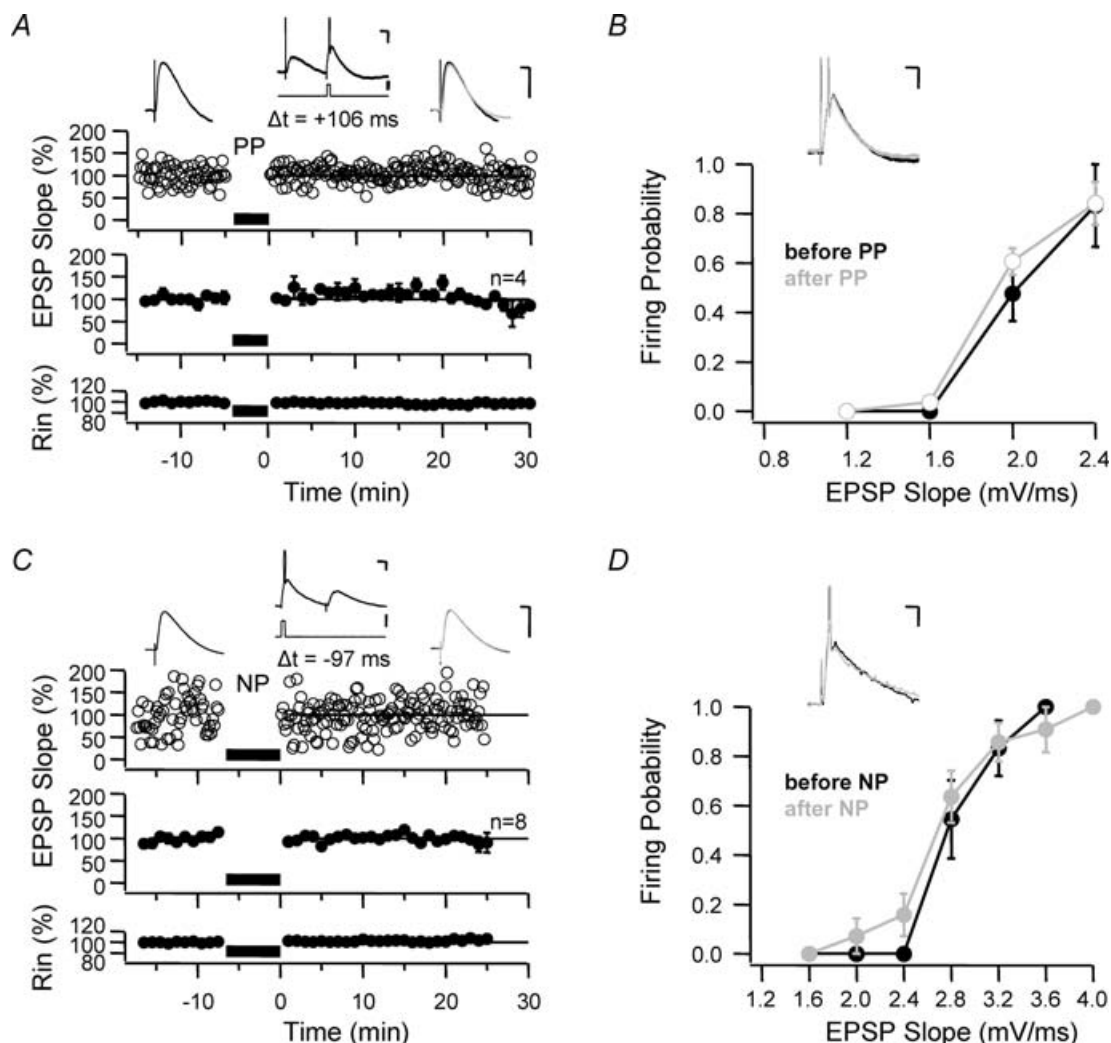


Figure 2. Temporal specificity of the plasticity of dendritic integration

Positive pairing with long delay (here $+106 \text{ ms}$) had no effect on synaptic transmission (A) and dendritic integration (B). E–S shift here was -0.08 mV ms^{-1} . Negative pairing with long delays (here -97 ms) had no effect on synaptic transmission (C) and dendritic integration (D). E–S shift here was -0.07 mV ms^{-1} . Scale bars 20 ms , 5 mV , 200 pA .

conductances located in the dendrites. In CA1 hippocampal neurons, hyperpolarizing-activated cationic current (I_h) and A-type K^+ current (I_A) attenuate EPSPs (Hoffman *et al.* 1997; Magee, 1998) whereas persistent sodium current (I_{NaP}) amplified EPSPs (Lipowsky *et al.* 1996). It is not yet clear how these currents determine the EPSP–spike coupling. A simple way to test their role on EPSP waveform consists in determining their action on the amplitude/slope (A/Slp) relation of subthreshold EPSPs (see Methods). Blockade of attenuating voltage-gated currents (with 2.5 mM external Cs^+ or 1 μM ZD-7288 for I_h or with 1 mM 4-AP for I_A) increased the A/Slp ratio of the EPSP (Fig. 5A and

B). On average, A/Slp was, respectively, $107 \pm 3\%$ of the control ($P < 0.05$ paired *t* test; $n = 9$) when I_h was blocked with h-channel blockers and $128 \pm 9\%$ ($P < 0.05$ paired *t* test; $n = 6$; Fig. 5D) when I_A was blocked with 4-AP. Conversely, the blockade of I_{NaP} with 6 μM riluzole (Urbani & Belluzzi, 2000) reduced the A/Slp ratio of the EPSP (Fig. 5C). On average, A/Slp was $91 \pm 2\%$ of the control ($P < 0.05$ paired *t* test; $n = 5$; Fig. 5D). These results indicate that voltage-gated currents (such as I_h , I_A or I_{NaP}) regulate the A/Slp relation of the EPSP and may thus be the expression mechanism of the bi-directional plasticity of EPSP–spike coupling induced by STDP protocols.

To test this hypothesis, we examined the A/Slp relation before and after inducing STDP. The A/Slp relation was enhanced when LTP was induced with positive correlation (18/29; mean = $104 \pm 1\%$, $n = 29$) but reduced when LTD was induced with negative correlation (22/25; mean = $91 \pm 1\%$, $n = 25$). It was differentially affected after short positive or negative pairing (Fig. 6A, B and E; Mann–Whitney *U* test, $P < 0.001$) but not following long positive or negative pairing (Fig. 6C, D and E; Mann–Whitney *U* test, $P > 0.5$). These data indicate that the EPSP–spike plasticity observed following STDP may result from the long-term regulation of the conductances controlling EPSP amplification. In addition, changes in EPSP–spike coupling may be the consequence of the regulation of the A/Slp relation by these voltage-gated conductances. E–S potentiation observed after LTP could simply result from the increase in A/Slp whereas E–S depression observed after LTD may result from a decrease in A/Slp.

Long-term plasticity of dendritic integration associated with STDP is input specific

The spatial restriction of activity-dependent synaptic plasticity is thought to preserve a high potential for information storage. This level of functional and spatial resolution would be dramatically reduced if the plasticity of dendritic integration was generalized to other synaptic inputs. Input specificity has been demonstrated for long-term facilitation in dendritic integration associated with LTP and LTD induced by patterned presynaptic stimulation (Daoudal *et al.* 2002). However, it is not yet clear whether long-term changes in dendritic integration induced with STDP protocol are also restricted to the conditioned pathway. To address this question, the A/Slp relation of the EPSP was monitored at two independent synaptic pathways before and after positive or negative correlation. One pathway located at $\sim 100 \mu m$ from the pyramidal cell layer was paired with a postsynaptic spike procedure whereas the second pathway located at $\sim 40 \mu m$ from the cell body layer was stimulated as in control conditions (0.1 Hz). After positive correlation,

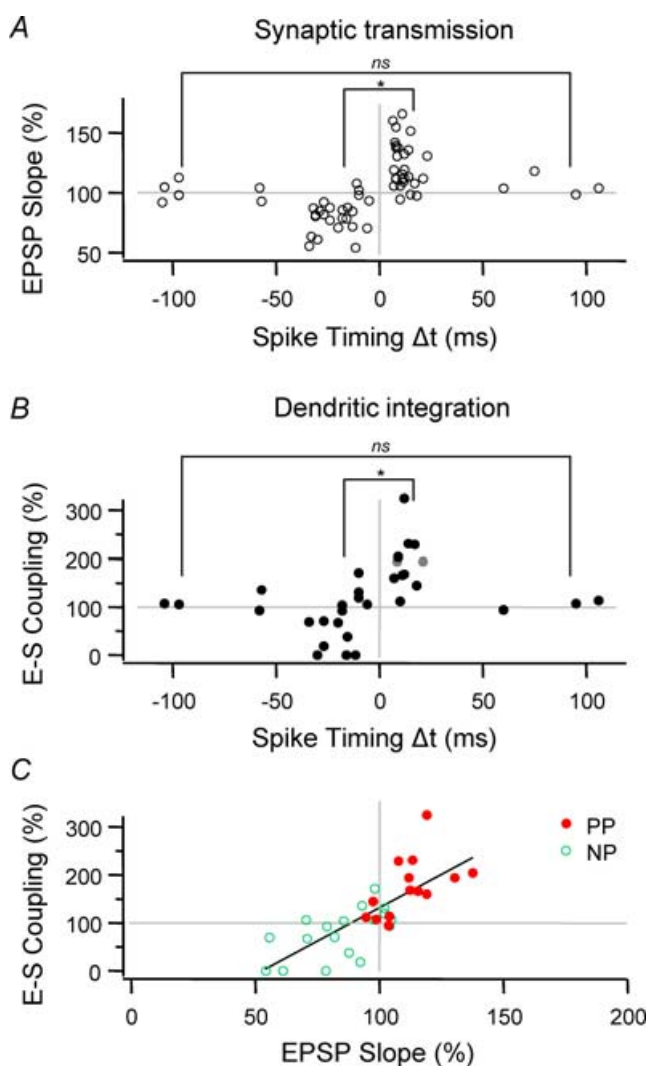


Figure 3. STDP of dendritic integration

A, plot of the normalized EPSP slope versus spike timing. B, plot of the normalized E–S coupling versus spike timing. Note the similarity in the profiles obtained for synaptic transmission (A) and dendritic integration (B). C, plot of the normalized E–S coupling versus EPSP slope in all experiments. Note the correlation between synaptic and non-synaptic changes (linear regression: $y = 2.8x - 145.2$, $R^2 = 0.58$).

the paired pathway was potentiated (normalized EPSP slope: $145 \pm 5\%$, $n = 4$) but the control pathway remained unchanged ($97 \pm 4\%$ of the control, $n = 4$; paired t test $P < 0.05$; Fig. 7). Most importantly, the A/Slp ratio was differentially increased at the paired pathway ($109 \pm 4\%$ of the control, $n = 4$) but not at the control pathway ($99 \pm 4\%$, $n = 4$; paired t test, $P < 0.05$), suggesting that the facilitation in dendritic integration is specific to the positively paired pathway. Thus, these results indicate that there are local input-dependent changes in EPSP amplification, presumably in the dendrites.

Similar differential changes were observed with negative correlation. LTD was induced at the paired but not at the control pathway (normalized EPSP slope; $79 \pm 4\%$ versus $115 \pm 10\%$, $n = 6$, paired t test $P < 0.05$, Fig. 8). The A/Slp ratio was differentially decreased at the conditioned and at the control pathway ($90 \pm 3\%$ versus $106 \pm 4\%$, $n = 6$, paired t test $P < 0.05$). We conclude that long-term plasticity of dendritic integration induced in parallel with STDP protocols is input specific and thus respects the spatial selectivity of synaptic changes.

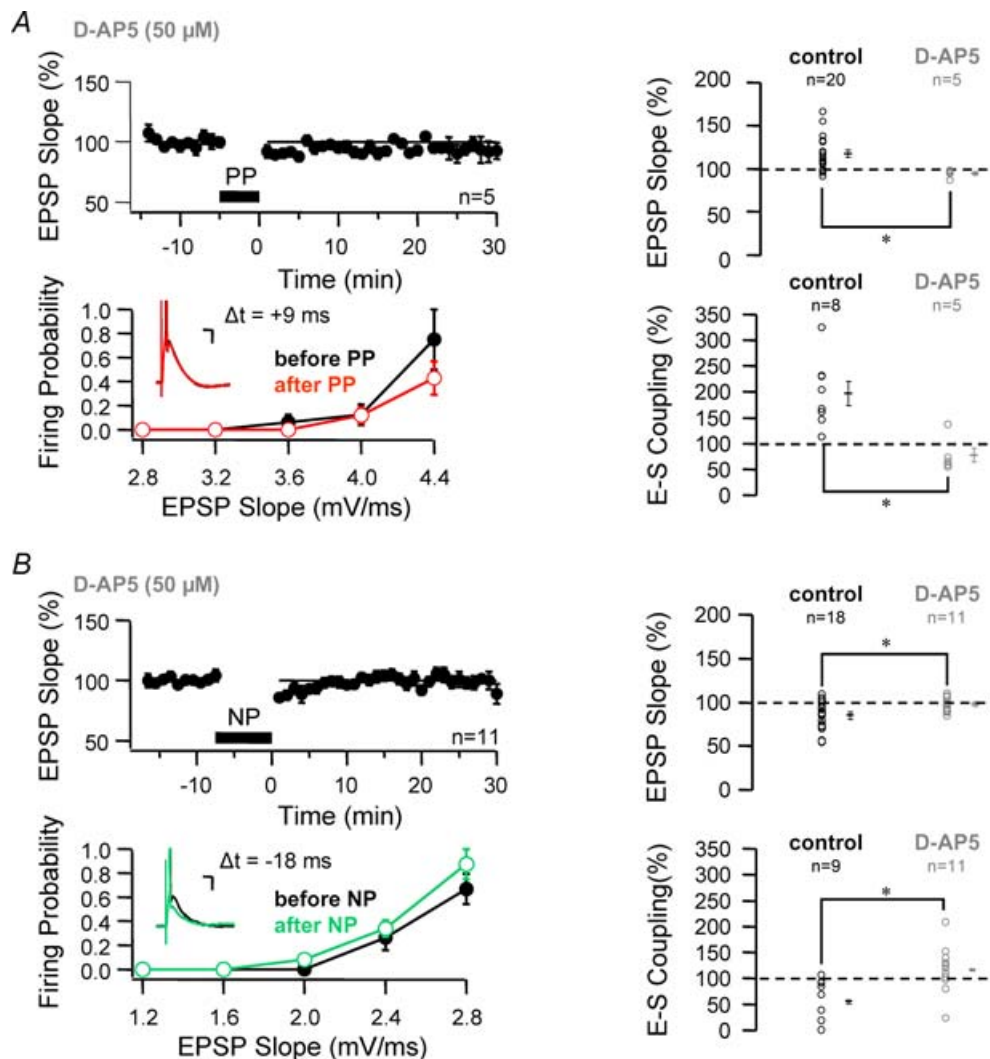


Figure 4. Bidirectional plasticity of dendritic integration requires activation of NMDA receptors

A, in the presence of $50 \mu\text{M}$ D-AP5, positive pairing (PP) with a short delay (< 50 ms) failed to produce LTP and facilitation in dendritic integration. Upper left graph, normalized EPSP slope pooled over 5 experiments. Lower left graph, firing probability plots in a representative experiment before and after LTP induction. Right, normalized changes in EPSP slope (top) and EPSP–spike coupling (bottom) after PP in control conditions and in the presence of D-AP5. **B**, in the presence of $50 \mu\text{M}$ D-AP5, negative pairing (NP) with a short delay (< -50 ms) failed to induce LTD and depression in dendritic integration. Right, normalized changes in EPSP slope (top) and EPSP–spike coupling (bottom) after NP in control conditions and in the presence of D-AP5. Scale bars 20 ms, 5 mV.

Discussion

We show that the STDP rule initially established for long-term synaptic plasticity is also valid for the plasticity of dendritic integration in CA1 pyramidal neurons. The generation of a postsynaptic spike by the conditioned synaptic pathway was facilitated following induction of LTP with short positive correlation ($\Delta t < +50$ ms) but decreased after LTD induction with short negative correlation ($\Delta t < -50$ ms). Thus, the observed plasticity of dendritic integration represents a mechanism of functional redundancy that ensures significant changes in the neuron output when synaptic plasticity is induced. The temporal selectivity of the effect was demonstrated by the lack of changes in both synaptic transmission and dendritic integration for long positive or negative correlation ($> \pm 50$ ms). Plasticity of dendritic integration required activation of NMDA receptors, indicating that the plasticity of dendritic integration and synaptic plasticity share common induction pathways. Synaptic and E–S changes were found to be correlated, suggesting that both the synaptic strength and the input–output function of the neuron changed synergistically at the postsynaptic side. All these changes were observed in the presence of a blocker of GABA_A receptors indicating that these

modifications do not result from changes in the balance between synaptic excitation and inhibition but rather from a modification in the activity of voltage-gated channels that shape EPSPs. This conclusion is supported by the fact that the EPSP amplification evaluated by the A/Slp relation was differentially affected following induction of spike timing-dependent synaptic plasticity. For a given slope the EPSP amplitude was, respectively, increased or decreased when LTP or LTD was induced. These modifications are likely to facilitate spike generation after LTP or conversely decrease spike generation after LTD. Importantly, these modifications were found to be specific to the conditioning input. Similar modifications in the A/Slp ratio of the EPSP could be mimicked by bath application of blockers of EPSP amplification or EPSP attenuation, suggesting that changes in dendritic integration might be mediated by the regulation of intrinsic voltage-gated conductances.

Synaptic plasticity induced by STDP with single spikes

Our results show that LTP or LTD could be consistently induced in the presence of the GABA_A receptor antagonist PiTX when the test EPSP was positively or negatively paired with single postsynaptic spikes, respectively. Although induction of LTD with single postsynaptic spikes is a robust

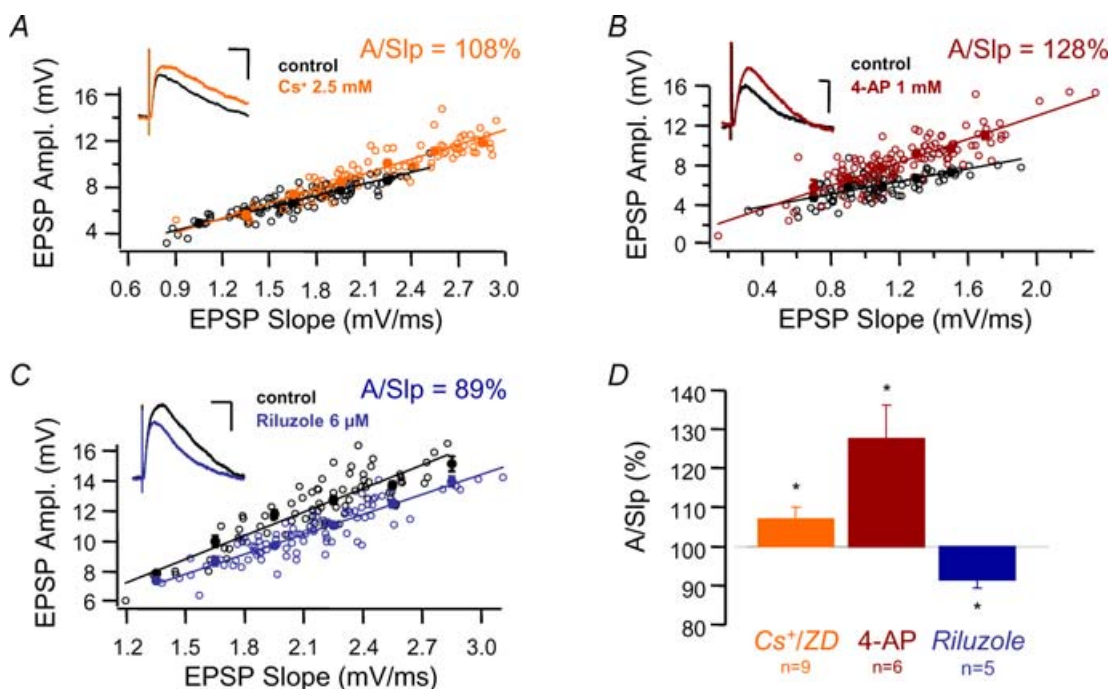


Figure 5. Voltage-gated currents determine the amplitude/slope (A/Slp) relation of the EPSP

In control conditions (open black symbols), this relation can be fitted by a linear regression. *A*, in the presence of an h-channel blocker (here external Cs⁺) the amplitude of the EPSP is slightly increased for a given EPSP slope (see inset). Averaged amplitudes in each class of EPSP slope are illustrated by filled symbols. *B*, in the presence of an A-type K⁺ blocker (4-aminopyridine, 1 mM) the EPSP amplitude is also increased. *C*, in the presence of the persistent sodium channel blocker riluzole (6 μM) it is, however, decreased. *D*, summary of the changes in A/Slp relation of the EPSP induced by blockers of *I_h* (Cs⁺ and ZD), *I_A* (4-AP) and *I_{NaP}* (riluzole). Scale bars 20 ms, 5 mV.

phenomenon, induction of LTP is a matter of controversy. Induction of LTP using single postsynaptic spikes was initially reported in organotypic (Debanne *et al.* 1998) and dissociated hippocampal cultures (Bi & Poo, 1998). These findings were questioned by subsequent studies in acute slices showing that LTP was consistently induced in CA1 neurons when EPSPs were paired with bursts of two to three action potentials but not with single spikes (Pike *et al.* 1999; Wittenberg & Wang, 2006). Development of GABAergic synaptic inhibition represents a major gating mechanism for induction of LTP and may account for this discrepancy. In fact, LTP is consistently induced with single postsynaptic spikes in young rats (< P15) but not in old rats (> P20) (Meredith *et al.* 2003). In mature animals, robust LTP is induced with single postsynaptic

spikes when GABA_A receptors are blocked with PiTX. Our data therefore confirm these results. The control of LTP by synaptic inhibition may result from the interference of inhibitory synaptic potentials with NMDA receptor activation and/or with back-propagated action potentials (reviewed in Sourdet & Debanne, 1999).

STDP is a learning rule for synaptic and non-synaptic plasticity

Our study supports the conclusion that the learning rules established for synaptic transmission may also be valid for intrinsic plasticity. We previously showed that the BCM rule not only describes synaptic changes but also E–S

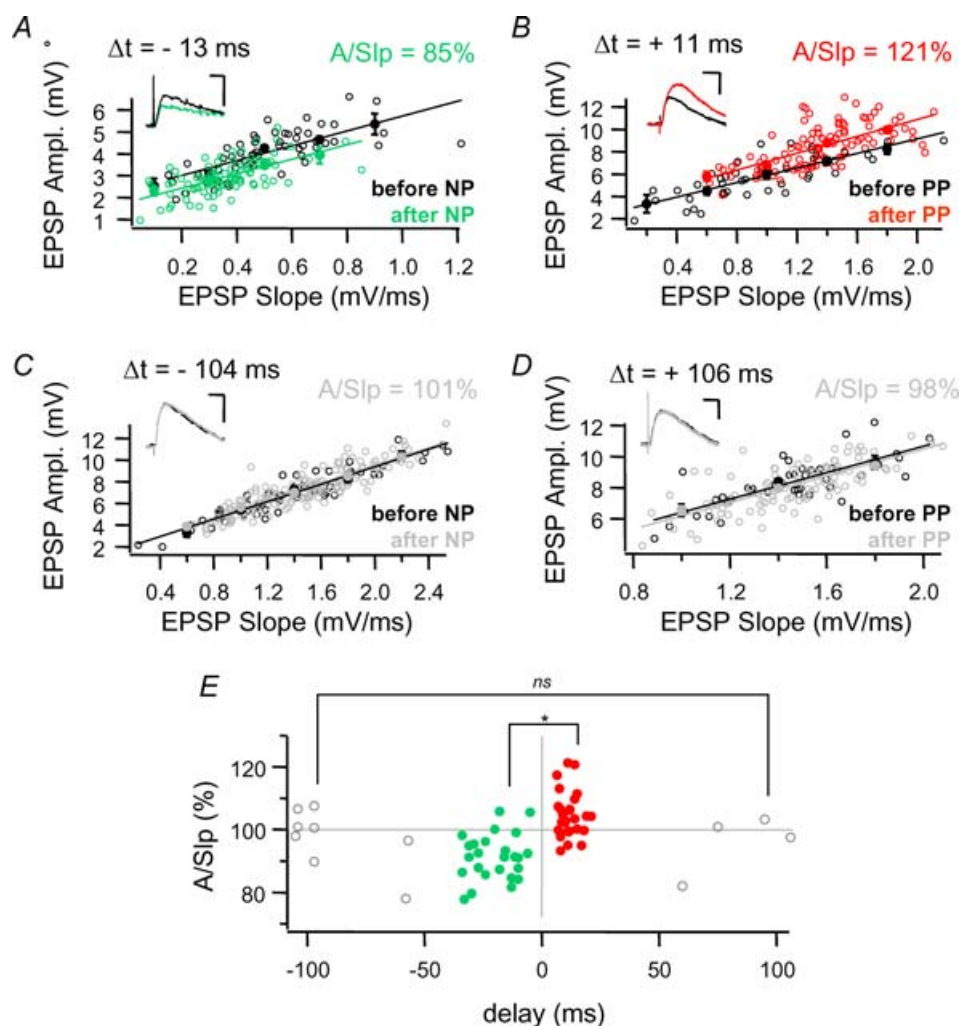


Figure 6. Changes in the A/Slp relation of the EPSP after STDP

A, effect of short negative pairing (delay -13 ms) on the A/Slp relation. B, effect of short positive pairing (delay $+11$ ms) on the A/Slp relation. C and D, effects of long negative (C) and positive (D) pairing (-104 and $+106$ ms, respectively) on the A/Slp relation. E, normalized A/Slp versus spike timing. Note the loss of A/Slp for short negative delays and the gain in A/Slp for short positive delays ($P < 0.05$). For long positive or negative delays (O) the changes were not significant. Scale bars 20 ms, 5 mV.

plasticity in CA1 pyramidal neurons (Daoudal *et al.* 2002; Daoudal & Debanne, 2003a). The present study generalizes this statement to the second major learning rule, the STDP rule, and strengthens the evidence for the essential similarity of the two rules (Karmakar & Buonomano, 2002; Shouval *et al.* 2002).

Postsynaptic changes in EPSP summation have been reported in CA1 pyramidal neurons following a STDP protocol (Wang *et al.* 2003). These changes were synergistic with synaptic plasticity but the temporal specificity was not tested. Our results demonstrate that STDP represents a common learning rule for synaptic plasticity and plasticity of dendritic integration at the postsynaptic side of CA1 pyramidal neurons. More specifically, our study shows that the STDP rule is not only valid for E–S coupling (Fig. 3) but also for EPSP amplification (Fig. 6). EPSP amplification was facilitated following induction of LTP by positive correlation but depressed when LTD was induced with negative correlation. Thus, plasticity induced by the precise temporal relationship between pre- and postsynaptic activity not only affects

the excitatory postsynaptic current but also determined voltage-gated mechanisms controlling EPSP amplification in a functionally synergistic way.

A functional synergy between synaptic changes and plasticity of presynaptic intrinsic excitability has been also reported in central neurons. In synaptically connected hippocampal and neocortical neurons, positive or negative correlation not only affects synaptic efficacy but also increases or decreases the global excitability of the presynaptic neuron, respectively (Ganguly *et al.* 2000; Li *et al.* 2004). Thus, long-term pre- and postsynaptic changes in neuronal excitability are induced in parallel and in synergy with long-term synaptic plasticity (Campanac & Debanne, 2007). In conclusion, plasticity of intrinsic excitability should be incorporated into a general framework in which synaptic and non-synaptic plasticity interact coherently and harmoniously (Daoudal & Debanne, 2003a; Campanac & Debanne, 2007).

In vivo, CA3 and CA1 neurons fire not only single spikes but also bursts of spikes. The protocols used here could be closer to physiological patterns of activity; however,

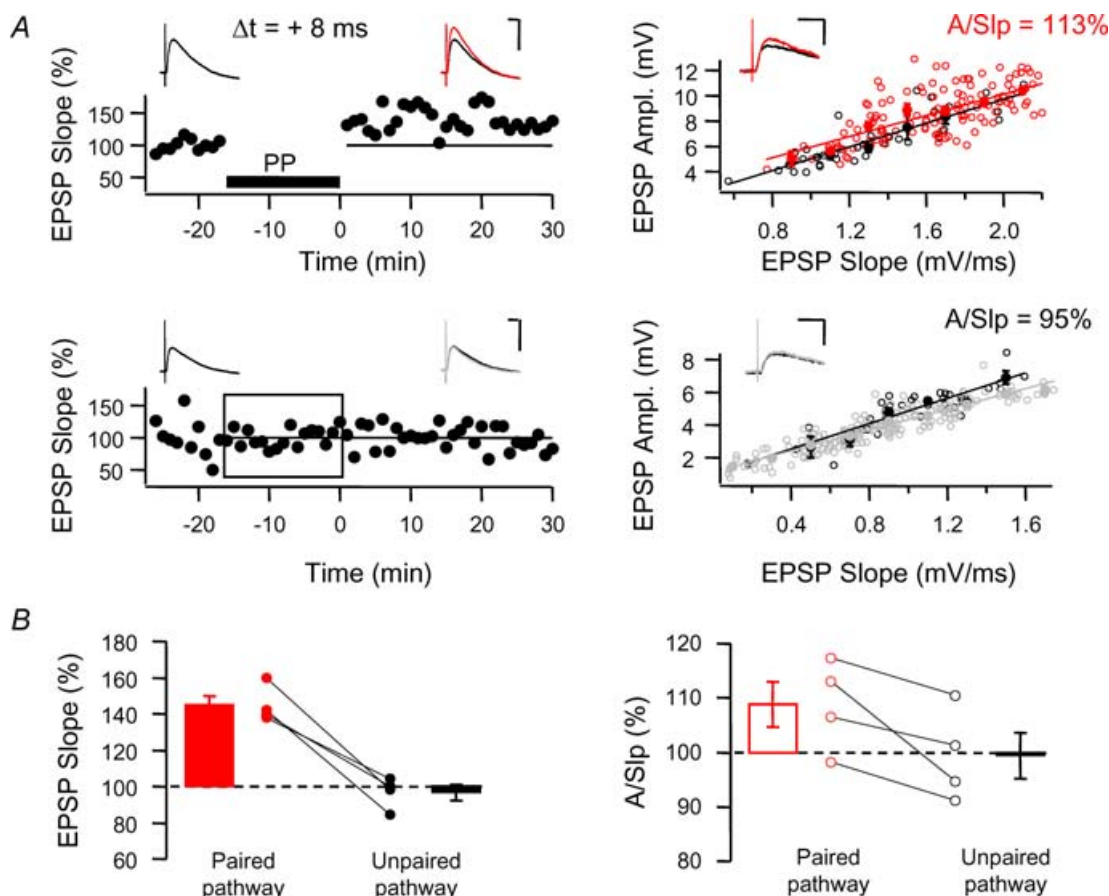


Figure 7. Input-specific facilitation in dendritic integration

A, single experiment. Left, time-courses of the EPSP slope (1 min averages) for the paired (top) and unpaired (bottom) pathways. Right, A/Slp relation for the paired (top) and unpaired (bottom) pathways. B, normalized EPSP slope (left) and normalized A/Slp relation of the EPSP (right). Scale bars 20 ms, 5 mV.

the parameters are controlled and these protocols provide very simple and reproducible results. It will be important to define in the future the rules governing E–S plasticity with more realistic patterns of activity including multiple temporal spike interaction (Paulsen & Sejnowski, 2000; Sjöström *et al.* 2001; Froemke & Dan, 2002; Wang *et al.* 2005).

Long-term regulation of EPSP amplification, a mechanism for E–S plasticity

E–S potentiation and E–S depression are partly mediated by an imbalance between synaptic excitation and GABAergic inhibition (Hess & Gustafsson, 1990; Jester *et al.* 1995; Daoudal *et al.* 2002; Staff & Spruston, 2003; review in Daoudal & Debanne, 2003a). All the experiments reported here were performed in the presence of the GABA_A receptor blocker PiTX. Although our study addressed the mechanisms underlying GABA_A receptor-independent E–S plasticity, it does not preclude the existence of a GABAergic component in E–S plasticity

induced by STDP protocols (see Marder & Buonomano, 2004).

The bidirectional changes in EPSP–spike coupling were not associated with a modification in the spike threshold. This finding is apparently in discrepancy with the study by Xu *et al.* (2005) where a hyperpolarization of 10 mV was reported after LTP induction. However, the hyperpolarization of the spike threshold may result from the elevated postsynaptic spiking during the induction protocol (400 spikes at 20 Hz in their study *versus* 100 spikes at 0.3 Hz in ours). In fact, postsynaptic firing at 30–40 Hz is sufficient to increase intrinsic excitability in L5 cortical neurons by a reduction in the spike threshold (Cudmore & Turrigiano, 2004). Thus, the lack of hyperpolarization of the spike threshold may well result from the fact that postsynaptic spiking was moderate in our experiments. Rather, EPSP amplification was bi-directionally regulated following LTP or LTD induced with spike timing-dependent protocols. Changes in field EPSP waveform have been reported following induction of LTP (Hess & Gustafsson, 1990) but our

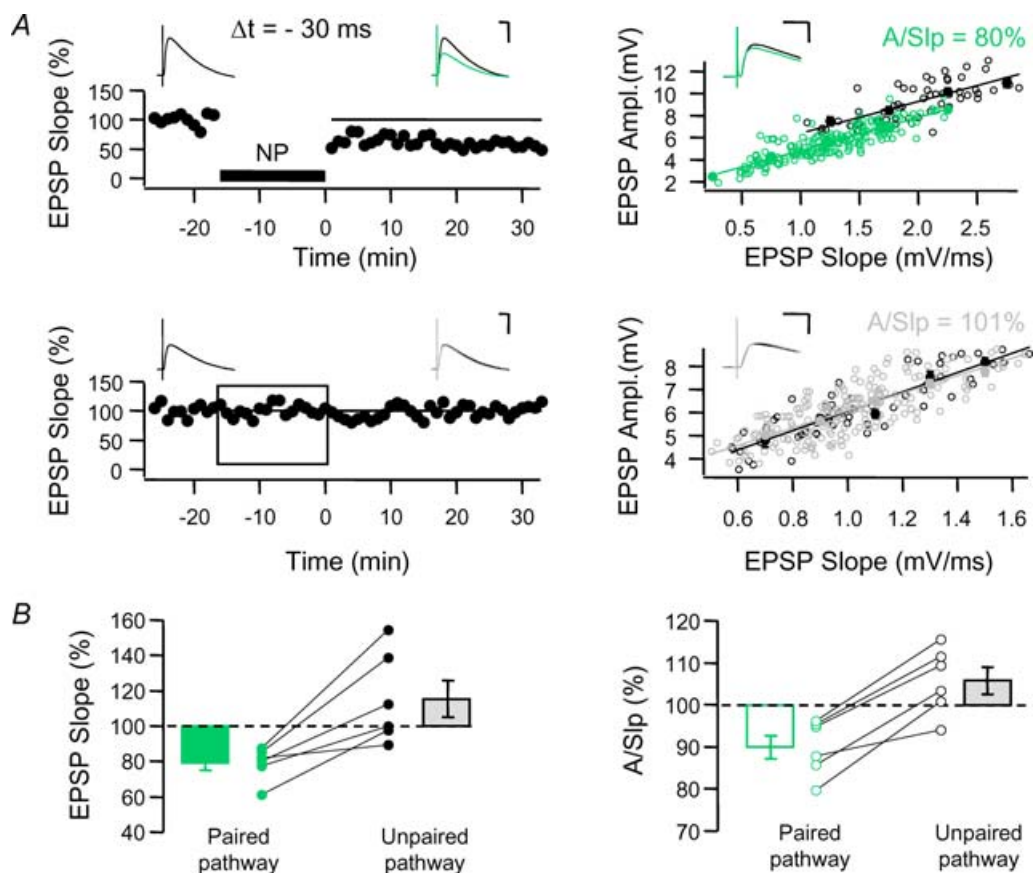


Figure 8. Input-specific depression in dendritic integration

A, single experiment. Left, time-courses of the EPSP slope (1 min averages) for the paired (top) and unpaired (bottom) pathways. Right, A/Slp relation for the paired (top) and unpaired (bottom) pathways. B, normalized EPSP slope (left) and normalized A/Slp relation of the EPSP (right). Scale bars 20 ms, 5 mV.

study constitutes the first report to our knowledge of a bidirectional long-term plasticity of EPSP amplification. These modifications could well account for the change in EPSP–spike coupling induced by STDP since the EPSP amplitude for a given slope was, respectively, enhanced after positive correlation or depressed after negative correlation.

These changes are unlikely to be mediated by a synaptic component. In principle, a change in EPSP waveform after LTP could result from a modification in synaptic inhibition, in the recruitment of polysynaptic circuits, in the kinetics of AMPA receptor-mediated EPSC or in the NMDA receptor-mediated component that controls EPSP amplitude. GABA_A receptors were blocked with PiTX, thus eliminating the first possibility. Furthermore, the change in EPSP waveform is unlikely to be the result of the recruitment of polysynaptic pathways since the CA1 region was surgically isolated from the CA3 area and the subiculum, and the onset of EPSPs was always monotonic. In addition, the waveform of the AMPA receptor-mediated synaptic current remains unchanged following induction of LTP (Benke *et al.* 1998; Rammes *et al.* 1999) or LTD (Lüthi *et al.* 2004) in CA1 pyramidal neurons. Thus, the last possibility for a synaptic origin in the change in A/Slp involves the NMDA receptor-mediated component (Wang *et al.* 2003). However, this possibility is again unlikely since it is now well established that the AMPA/NMDA ratio at the Schaffer collateral–CA1 cell synapse is increased after induction of LTP (Isaac *et al.* 1995; Liao *et al.* 1995) and decreased after LTD (Beattie *et al.* 2000; review in Carroll *et al.* 2001). Therefore, EPSPs with similar initial slopes (i.e. similar AMPA components) would have a relatively reduced NMDA component after LTP and a relatively increased NMDA component after LTD. Supporting this view, synaptically triggered APs begin as a depolarizing ramp that is highly sensitive to QX314 but not to D-AP5 (Hu *et al.* 1992). In conclusion, the changes in EPSP amplification are unlikely to be mediated by a change in the NMDA receptor-mediated component but rather by a modification in the voltage-dependent conductances. This last hypothesis is strongly supported by the fact that the pharmacological blockade of I_h with Cs⁺ or ZD-7288 and I_A with 4-AP increased the A/Slp relation of the EPSP whereas the blockade of I_{NaP} with riluzole had the opposite effect. EPSP amplification after LTP might result either from a decrease in I_A (Frick *et al.* 2004; Kim *et al.* 2007), in I_h (Daoudal & Debanne, 2003b; E. Campanac, G. Daoudal, N. Ankri & D. Debanne, unpublished observation) or an increase in sodium channel activity (Xu *et al.* 2005). Conversely, EPSP attenuation observed after LTD might result from regulation of one or more of these currents in the opposite direction. The identification of the expression mechanisms underlying E–S depression will be the purpose of another study.

Local changes in dendritic integration

Our results indicate that postsynaptic changes in dendritic integration are not global in CA1 pyramidal neurons. Both STDP-induced facilitation and depression of dendritic integration were found to be input specific, indicating that these changes are spatially restricted. The functional consequence of the input specificity of long-term plasticity of dendritic integration is that the storage capacity conveyed by synapses will be preserved (Zhang & Linden, 2003). In contrast to a previous study (Xu *et al.* 2005), the spike threshold measured at the cell body was not affected. Rather, the change in dendritic integration may result from a local modification in EPSP amplification. In fact, the A/Slp relation was differentially affected on the paired and unpaired pathways following induction of LTP or LTD. These results confirm previous findings indicating that E–S plasticity (Daoudal *et al.* 2002), EPSP summation (Wang *et al.* 2003; Xu *et al.* 2006) and dendritic excitability (Frick *et al.* 2004) induced in parallel with synaptic plasticity are spatially restricted in CA1 pyramidal neurons. However, a local change in intrinsic excitability is not a general rule since synaptic activity may also produce global changes in postsynaptic excitability in central neurons (Armano *et al.* 2000; Aizenman & Linden, 2000; Sourdet *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2004).

How could a local change in dendritic excitability produce an input-specific modification in dendritic integration? Our experimental results are compatible with mathematical models of synaptic integration in active dendrites. Theoretical work shows that E–S potentiation simulated by adding local hot spots of depolarizing conductances in dendrites tends to be specific to the tetanized input if the untetanized contacts were electrically closer to the soma than the tetanized contacts (Wathey *et al.* 1992). In this study, specificity was also high if the tetanized and untetanized contacts were segregated to different primary dendrites. Thus, input-specific changes in dendritic integration are possible if voltage-gated activity is locally regulated in the dendrites. Further experimental studies will be required to identify the underlying conductances. All the experiments were performed with a control pathway more proximal (~40 µm) than the paired input (~100 µm). The spatial configuration of the two inputs relative to the cell body is unlikely to be the only source of input specificity since the facilitation of EPSP summation observed after LTP induction is equally observed when distal or proximal inputs are co-activated (Wang *et al.* 2003).

What is the precise degree of input specificity? This question has not yet been fully addressed for dendritic integration and would require detailed analysis with a systematic exploration of the spatial spread of potentiation and depression of dendritic integration. However, shared long-term facilitation in EPSP summation may occur between a potentiated and a control input separated by

50 μm , but not when the inputs are more distant (Wang *et al.* 2003). It will be important to test whether the basic computational unit estimated for synaptic transmission to 70 μm of dendritic length (Engert & Bonhoeffer, 1997) is maintained for plasticity of dendritic integration. Further studies will be required to address this question.

References

- Abraham WC, Gustafsson B & Wigström H (1987). Long-term potentiation involves enhanced synaptic excitation relative to synaptic inhibition in guinea pig hippocampus. *J Physiol* **394**, 367–380.
- Aizenman C & Linden DJ (2000). Rapid, synaptically driven increases in the intrinsic excitability of cerebellar deep nuclear neurons. *Nat Neurosci* **3**, 109–111.
- Andersen P, Sundberg SH, Sveen O, Swann JW & Wigström H (1980). Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *J Physiol* **302**, 463–482.
- Armano S, Rossi P, Taglietti V & D'Angelo E (2000). Long-term potentiation of intrinsic excitability at the mossy fiber-granule cell synapse of rat cerebellum. *J Neurosci* **20**, 5208–5216.
- Artola A, Bröcher S & Singer W (1990). Different voltage-gated dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature* **347**, 69–72.
- Beattie EC, Carroll RC, Yu X, Morishita W, Yasuda H, von Zastrow M & Malenka RC (2000). Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signalling mechanism shared with LTD. *Nat Neurosci* **3**, 1291–1300.
- Benke TA, Lüthi A, Isaac JTR & Collingridge GL (1998). Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* **393**, 793–797.
- Bi G & Poo M (1998). Synaptic modifications in cultures hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci* **18**, 10464–10472.
- Bienenstock E, Cooper LN & Munro P (1982). Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* **2**, 23–48.
- Bliss TVP & Lomo T (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* **232**, 331–356.
- Bliss TVP, Lomo T & Gardner-Medwin AR (1973). *Macromolecules and Behaviour*, ed. Ansell G & Ansell BPB, pp. 193–203. MacMillan, London.
- Campanac E & Debanne D (2006). Spike timing dependent plasticity: a learning rule for synaptic integration in CA1 pyramidal neurons. *FENS A192.5* (abstract).
- Campanac E & Debanne D (2007). Plasticity of neuronal excitability: Hebbian rules beyond the synapse. *Arch Ital Biol* **145**, 277–287.
- Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M & Malenka RC (2001). Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* **2**, 315–324.
- Chevalayre V & Castillo PE (2002). Assessing the role of Ih channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 9538–9543.
- Cudmore RH & Turrigiano GG (2004). Long-term potentiation of intrinsic excitability in LV visual cortical neurons. *J Neurophysiol* **92**, 341–348.
- Dan Y & Poo MM (2006). Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* **86**, 1033–1048.
- Daoudal G & Debanne D (2003a). Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* **10**, 456–465.
- Daoudal G & Debanne D (2003b). The role of I_h in the expression of EPSP-spike potentiation in the area CA1 of the rat hippocampus. *Abstr Soc Neurosci* 810.6.
- Daoudal G, Hanada Y & Debanne D (2002). Bidirectional plasticity of excitatory postsynaptic potential (EPSP)-spike coupling in CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 14512–14517.
- Debanne D, Gähwiler BH & Thompson SM (1994). Asynchronous pre- and postsynaptic activity induces associative depression in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 1148–1152.
- Debanne D, Gähwiler BH & Thompson SM (1996). Cooperative interactions in the induction of long-term potentiation and depression of synaptic excitation between hippocampal CA3-CA1 cell pairs in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 11225–11230.
- Debanne D, Gähwiler BH & Thompson SM (1998). Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *J Physiol* **507**, 237–247.
- Dudek SM & Bear MF (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 4363–4367.
- Engert F & Bonhoeffer T (1997). Synapse specificity of long-term potentiation breaks down at short distances. *Nature* **388**, 279–284.
- Fan Y, Fricker D, Brager DHD, Chen X, Lu HC, Chitwood RA & Johnston D (2005). Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in I_h . *Nat Neurosci* **8**, 1542–1551.
- Feldman DE (2000). Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron* **27**, 45–56.
- Frick A, Magee J & Johnston D (2004). LTP is accompanied by an enhanced local excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* **7**, 126–135.
- Froemke RC & Dan Y (2002). Spike-timing-dependent synaptic modification induced by natural spike trains. *Nature* **416**, 433–438.
- Ganguly K, Kiss L & Poo MM (2000). Enhancement of presynaptic neuronal excitability by correlated presynaptic and postsynaptic spiking. *Nat Neurosci* **3**, 1018–1026.
- Gustafsson B, Wigström H, Abraham WC & Huang YY (1987). Long-term potentiation in the hippocampus using depolarizing current pulses as the conditioning stimulus to single volley synaptic potentials. *J Neurosci* **7**, 774–780.

- Hansel C, Linden DJ & D'Angelo E (2001). Beyond parallel fiber LTD: the diversity of synaptic and non-synaptic plasticity in the cerebellum. *Nat Neurosci* **4**, 467–475.
- Hess G & Gustafsson B (1990). Changes in field excitatory postsynaptic potential shape induced by tetanization in the CA1 region of the guinea-pig hippocampal slice. *Neuroscience* **37**, 61–69.
- Hoffman DA, Magee JC, Colbert CM & Johnston D (1997). K⁺ channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Nature* **387**, 869–875.
- Hu GY, Hvalby Ø, Lacaille JC, Piercey B, Østberg T & Andersen P (1992). Synaptically triggered action potentials begin as a depolarizing ramp in rat hippocampal neurones *in vitro*. *J Physiol* **453**, 663–687.
- Isaac JT, Nicoll RA & Malenka R (1995). Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* **15**, 427–434.
- Jester JM, Campbell LW & Sejnowski TJ (1995). Associative EPSP-spike potentiation induced by pairing orthodromic and antidromic stimulation in rat hippocampal slices. *J Physiol* **484**, 689–705.
- Karmakar UR & Buononano DV (2002). A model of spike-timing dependent plasticity: one or two coincidence detectors? *J Neurophysiol* **88**, 507–513.
- Kim J, Jung SC, Clemens AM, Petralia RS & Hoffman DA (2007). Regulation of dendritic excitability by activity-dependent trafficking of the A-type K⁺ channel subunit Kv4.2 in hippocampal neurons. *Neuron* **54**, 933–947.
- Li C, Lu J, Wu C, Duan S & Poo MM (2004). Bidirectional modification of presynaptic neuronal excitability accompanying spike timing-dependent synaptic plasticity. *Neuron* **41**, 257–268.
- Liao D, Hessler NA & Malinow R (1995). Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* **375**, 400–404.
- Lipowsky R, Gillezen T & Alzheimer C (1996). Dendritic Na⁺ channels amplify EPSPs in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* **76**, 2181–2191.
- Lüthi A, Wikström MA, Palmer MJ, Matthews P, Benke TA, Isaac JI & Collingridge GL (2004). Bi-directional modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *BMC Neurosci* **5**, 44.
- Magee JF (1998). Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* **18**, 7613–7624.
- Marder CP & Buononano DV (2003). Differential effects of short- and long-term potentiation on cell firing in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurosci* **23**, 112–121.
- Marder CP & Buononano DV (2004). Timing and balance of inhibition enhance the effect of long-term potentiation on cell firing. *J Neurosci* **24**, 8873–8884.
- Markram H, Lübke J, Frotscher M & Sakmann B (1997). Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science* **275**, 213–215.
- Meredith RM, Floyer-Lea AM & Paulsen O (2003). Maturation of long-term potentiation induction rules in rodent hippocampus: role of GABAergic inhibition. *J Neurosci* **23**, 11142–11146.
- Mulkey RM & Malenka RC (1992). Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* **9**, 967–975.
- Paulsen O & Sejnowski TJ (2000). Natural patterns of activity and long-term synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* **10**, 172–179.
- Pike F, Meredith RM, Olding WA & Paulsen O (1999). Postsynaptic bursting is essential for 'Hebbian' induction of associative long-term potentiation at excitatory synapses in rat hippocampus. *J Physiol* **518**, 571–576.
- Prüss H, Derst C, Lommel R & Veh RW (2005). Differential distribution of individual subunits of strongly inwardly potassium channels (Kir2 family) in rat brain. *Mol Brain Res* **139**, 63–79.
- Rammes G, Zeilhofer HU, Collingridge GL, Parsons CG & Swandulla D (1999). Expression of early hippocampal CA1 LTP does not lead to changes in AMPA-EPSC kinetics or sensitivity to cyclothiazide. *Eur J Physiol* **437**, 191–196.
- Shouval HZ, Bear MF & Cooper LN (2002). A unified model of NMDA receptor-dependent bidirectional synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 10831–10836.
- Sjöström PJ, Turrigiano GG & Nelson SB (2001). Rate, timing and cooperativity jointly determine cortical synaptic plasticity. *Neuron* **32**, 1149–1164.
- Sourdet V & Debanne D (1999). The role of dendritic filtering in associative long-term synaptic plasticity. *Learn Mem* **6**, 422–447.
- Sourdet V, Russier M, Daoudal G, Ankri N & Debanne D (2003). Long-term enhancement of neuronal excitability and temporal fidelity mediated by metabotropic glutamate receptor subtype 5. *J Neurosci* **23**, 10238–10248.
- Spruston N, Jaffe DB & Johnston D (1994). Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties. *Trends Neurosci* **17**, 161–166.
- Staff NP & Spruston N (2003). Intracellular correlate of EPSP-spike potentiation in CA1 pyramidal neurons is controlled by GABAergic modulation. *Hippocampus* **13**, 801–805.
- Storm JF (1988). Temporal integration by a slowly inactivating K⁺ current in hippocampal neurons. *Nature* **336**, 379–381.
- Thompson GA, Leyland ML, Ashmore I, Sutcliffe MJ & Stanfield PR (2000). Residues beyond the selectivity filter of the K⁺ channel Kir2.1 regulate permeation and block by external Rb⁺ and Cs⁺. *J Physiol* **526**, 231–240.
- Urbani A & Belluzzi O (2000). Riluzole inhibits the persistent sodium current in mammalian CNS neurons. *Eur J Neurosci* **12**, 3567–3574.
- Wang HX, Gerkin RC, Nauen DW & Bi GQ (2005). Coactivation and timing-dependent integration of synaptic potentiation and depression. *Nat Neurosci* **8**, 187–193.
- Wang Z, Xu N-I, Wu C-P, Duan S & Poo M-M (2003). Bidirectional changes in spatial dendritic integration accompanying long-term synaptic modifications. *Neuron* **37**, 463–472.
- Wathey JC, Lytton WW, Jester JM & Sejnowski TJ (1992). Computer simulations of EPSP-spike (E-S) potentiation in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurosci* **12**, 607–618.
- Wittenberg GW & Wang SSH (2006). Malleability of spike-timing-dependent plasticity at the CA3-CA1 synapse. *J Neurosci* **26**, 6610–6617.
- Xu J, Kang N, Jiang L, Nedergaard M & Kang J (2005). Activity-dependent long-term potentiation of intrinsic excitability in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* **25**, 1750–1760.

- Xu NL, Ye CQ, Poo MM & Zhang XH (2006). Coincidence detection of synaptic inputs is facilitated at the distal dendrites after long-term potentiation induction. *J Neurosci* **26**, 3002–3009.
- Zhang W & Linden DJ (2003). The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* **4**, 885–900.
- Zhang W, Shin JH & Linden DJ (2004). Persistent changes in the intrinsic excitability of rat deep cerebellar nuclear neurones induced by EPSP or IPSP bursts. *J Physiol* **561**, 703–719.

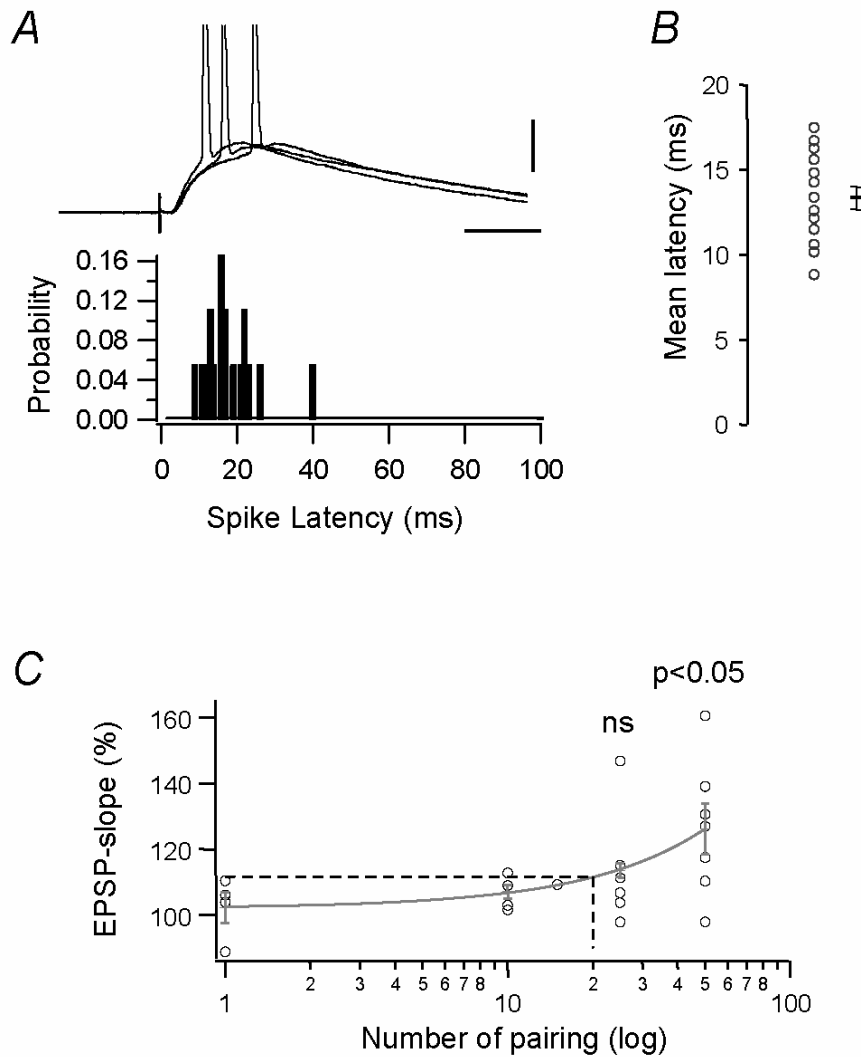
Acknowledgements

We thank T. Bliss and M. Seagar for constructive criticisms on the manuscript and J. Goaillard and O. Caillard for discussion.

This work was supported by Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM, AVENIR), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Agence Nationale de la Recherche (ANR Neuroscience Neurologie & Psychiatrie), Fondation pour la Recherche Médicale (Doctoral grant to E.C.) and the Ministry of Research (Doctoral grant to E.C. and ACI Jeunes Chercheurs to D.D.).

Supplemental material

Online supplemental material for this paper can be accessed at: <http://jp.physoc.org/cgi/content/full/jphysiol.2007.147017/DC1> and <http://www.blackwell-synergy.com/doi/suppl/10.1113/jphysiol.2007.147017>



Supplementary Figure 1. Incidence of the number of supra-threshold EPSPs on synaptic transmission. *A*, latency of the spike produced by suprathreshold EPSPs. The spike latency was determined from the onset of the EPSP. Lower graph, histogram of spikes. *B*, distribution of mean latency over 13 neurons. *C*, normalized EPSP-slope as a function of the number of pairings with a delay of +13 ms. Note that 50 pairings are required to reliably produce a significant change in synaptic efficacy (Mann-Whitney, $p > 0.05$ with 25 pairings, $p < 0.05$ with 50 pairings). Scale bar, 20 ms, 20 mV.

3.2. Article 2: Hebbian-like regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP

Campanac E., Daoudal G., Ankri N. et Debanne D.
(submitted)

Biological Sciences/Neuroscience

Hebbian-like regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP

^{*,†}Emilie Campanac, ^{*,†}Gaël Daoudal, ^{*,†}Norbert Ankri & ^{*,†}Dominique Debanne[‡]

^{*}INSERM U641, Marseille, 13916 France

[†]Université de la Méditerranée, Faculté de médecine nord,
Marseille, 13916 France

[‡]corresponding author,
Tel: (+33) 4 91 69 87 45

E-mail: dominique.debanne@univmed.fr

18 pages, 5 figures + 3 Suppl. figures

35380 characters

Dendrites, integration, homeostatic plasticity

Hyperpolarization-activated (h-) channels occupy a central position in dendritic function. While it has been demonstrated that these channels are regulated homeostatically following large depolarizations to reduce dendritic excitation, it is not clear whether they also support Hebbian-like long-term plasticity. We show here that nearly maximal long-term potentiation (LTP) induced by theta-burst pairing (TBP) produced homeostatic regulation in h-channel activity in CA1 pyramidal neurons. In contrast, moderate LTP induced by spike-timing-dependent-plasticity (STDP) or high-frequency stimulation (HFS) down-regulated the h-current (I_h) in the dendrites. Following HFS-induced LTP, the h-conductance (G_h) was reduced without changing its activation. Pharmacological blockade of I_h had no effect on LTP induction, but occluded E-S potentiation, an input-specific facilitation of dendritic integration. Dynamic-clamp reduction of G_h locally in the dendrite, mimicked the effects of HFS and enhanced synaptic integration in an input-selective way. We conclude that dendritic I_h is locally down-regulated following induction of non-maximal LTP, thus facilitating integration of the potentiated input.

In CA1 pyramidal neurons, EPSP waveform is regulated by several dendritic voltage-gated conductances (1). Among them, I_h attenuates EPSP amplitude and reduces dendritic excitability (2, 3). The h-current is prominent in the dendrites of CA1 neurons, and can be regulated by neuronal activity. Homeostatic (i.e. compensatory) up-regulation of I_h is induced in CA1 neurons by hyperthermia (4), post-synaptic depolarization (5) or following induction of large LTP with TBP (6). These regulations limit postsynaptic excitation. However, it is not yet clear whether h-channels also support non homeostatic (i.e. Hebbian-like) plasticity to enhance intrinsic excitability (IE).

Integration of synaptic inputs to produce an action potential (AP) is a fundamental step in the transfer of the neuronal message since spiking activity represents the main neuronal output (7, 8). Synaptic integration is relatively well characterized but its dynamics remain poorly understood. In the hippocampus, long-term potentiation (LTP) of excitatory synaptic transmission is induced by brief HFS (100 Hz) of afferent fibers (9). In parallel, the postsynaptic firing probability in response to a given input is enhanced (10-13). This second component has been called EPSP-to-Spike potentiation (E-S potentiation) which is synergistic to LTP and functionally important. E-S potentiation is not entirely abolished by GABA_A and GABA_B receptor antagonists (13-16), indicating that it may involve the long-lasting modulation of intrinsic voltage-gated conductances. GABA receptor-independent E-S potentiation is input specific (13, 16, 17) suggesting that the underlying changes in IE might be restricted to a small dendritic region. We show here for the first time that E-S potentiation which follows induction of moderate LTP in CA1 neurons is due to Hebbian long-lasting down-regulation of dendritic I_h .

RESULTS

Regulation of I_h depends on LTP amplitude

All experiments were performed in the presence of the GABA_AR channel blocker picrotoxin (PiTX). EPSPs were evoked by stimulation of the Schaffer collaterals (SC) at 70-120 μ m from the pyramidal cell layer and recorded in CA1 pyramidal neurons. Apparent input resistance (R_{in}) measured with large pulses to recruit I_h (100-150 pA, 0.8-1 s) was found to depend on LTP amplitude. In agreement with a previous study (6), large LTP (>250%) induced by TBP was associated with a *decrease* in apparent R_{in} (significant (Mann-Whitney (MW) $p < 0.01$) decrease in 4/5 cases, **Fig. 1A**). In contrast, moderate LTP (<150%) induced by TBP was associated with an *increase* in apparent R_{in} (significant increase in 4/4 cases **Fig. 1B**), suggesting a reduction in I_h . Physiologically, this latter regulation is important since *in vivo*, hippocampal LTP is also in the 120-150% range (18). Changes in apparent R_{in} were also analyzed for HFS- and STDP-induced LTP that are associated with E-S potentiation (13, 17). When the data obtained with the 3 LTP protocols were pooled together, a significant correlation between apparent R_{in} and LTP amplitude was found (**Fig. 1C**). HFS and STDP protocols led to moderate LTP (mean: 154% and 123%, respectively) and were associated with increased apparent R_{in} (HFS, significant increase in 8/14 cells; STDP, significant increase in 7/13 cells). On average, moderate LTP (<150%) induced by these protocols increased apparent R_{in} to $109 \pm 2\%$ ($n = 12$) and $108 \pm 3\%$ ($n = 11$), respectively. Thus, I_h is down-regulated for small LTP amplitudes.

If this hypothesis is true, E-S potentiation should be preferentially observed for moderate LTP. Consistent with this idea, E-S potentiation was maximal for modest LTP (<150%) but declined and reversed when LTP was larger than 160% (MW test, $p < 0.05$; Supporting Information (SI) **Fig. 6**). The down-regulation of I_h associated with moderate LTP has not yet been described. Since it was consistently observed with HFS, all subsequent experiments were performed with this protocol.

HFS down-regulates I_h

Increase in apparent R_{in} was associated with the reduction in the sag amplitude (-0.6 ± 0.3 mV, $n = 12$; **Fig. 2A**), indicating that I_h was down-regulated. These effects were stimulus-dependent because apparent R_{in} and sag amplitude were not affected in the absence of HFS ($102 \pm 3\%$ and 0.0 ± 0.1 mV, $n = 6$, respectively). In the presence of 50 μ M D-AP5, HFS produced no change in EPSP slope ($100 \pm 4\%$, $n = 11$), apparent R_{in} ($103 \pm 2\%$) and sag amplitude (0.1 ± 0.2 mV, **Fig. 2A**), indicating that I_h reduction requires NMDAR activation. I_h contributes to resting membrane potential (RMP) because a small fraction of h-channels is open at rest (8). We therefore tested whether RMP at the soma was changed following HFS. In fact, RMP remained constant (-0.0 ± 0.2 mV, $n = 12$, **Fig. 2A**), suggesting that the down-regulation of I_h might be spatially restricted within a small dendritic region and therefore too small to influence RMP at the soma. To distinguish between a reduction in G_h and a

leftward shift in its activation curve, I_h was studied in voltage-clamp before and after LTP induction ($128 \pm 3\%$, $n = 9$). No apparent shift in activation was noted (half activation: -77.4 mV vs. -75.9 mV after HFS, MW, $p > 0.05$) but a significant reduction in G_h was observed following LTP induction ($87 \pm 4\%$, $n = 9$; MW, $p < 0.001$; **Fig. 2B**).

Since h-channels are located in the dendrites (8), maximal change may occur there. To test this hypothesis, dual whole-cell soma and dendrite recordings (average distance: $66 \mu\text{m}$) were obtained from CA1 neurons (**Fig. 3A**). HFS produced a significantly larger effect when the current-pulse was injected in the dendrite ($108 \pm 4\%$ vs. $120 \pm 4\%$ in the dendrite, $n = 4$, paired t-test $p < 0.05$; **Fig. 3B**). Consistent with a local change in I_h , HFS produced a larger hyperpolarization in the dendrite (-0.9 ± 0.4 mV vs. -1.5 ± 0.3 mV in the dendrite, $n = 4$, paired t-test $p < 0.05$). Apparent R_{in} measured in the dendrite and LTP were inversely correlated (**Fig. 3C**), thus confirming our preceding observations.

I_h blockade abolishes E-S potentiation

HFS of the SC persistently enhanced both synaptic transmission ($126 \pm 4\%$ of the control EPSP slope, $n = 24$) and E-S coupling ($135 \pm 10\%$ of the control, $n = 24$, **Fig. 4A**) recorded extracellularly in the pyramidal cell layer (14). To determine the role of I_h in the expression of E-S potentiation, HFS was applied following the pharmacological blockade of h-channels with external Cs^+ (2.5 mM) or ZD-7288 ($1 \mu\text{M}$). In these conditions, HFS induced LTP (respectively, $189 \pm 6\%$, $n = 7$ and $135 \pm 4\%$, $n = 8$) but E-S potentiation was never observed (respectively, $96 \pm 4\%$, $n = 7$ and $101 \pm 10\%$, $n = 8$, **Fig. 4B & 4C**). Our results therefore indicate that pharmacological blockade of I_h prevents the expression of E-S potentiation but not LTP.

Changes in EPSP waveform

If I_h is down-regulated in the dendrites, EPSP waveform should be prolonged following LTP induction. Field EPSPs (fEPSPs) were recorded in the *stratum radiatum* and stimulus intensity was adjusted before and after LTP to collect families of fEPSP slopes. fEPSPs with matching slopes displayed slightly prolonged decays after LTP. On average the fEPSP integral increased to $108 \pm 2\%$ ($n = 7$; MW, $p < 0.001$). Similar observations were made in single CA1 pyramidal neurons ($116 \pm 5\%$ of the EPSP integral, $n = 8$). We then determined whether similar modifications were also induced by pharmacological blockade of I_h . Application of external Cs^+ or ZD-7288 increased the integral of matching-slopes EPSPs both in field potential ($113 \pm 2\%$, $n = 6$, MW, $p < 0.01$) and whole-cell recordings ($129 \pm 6\%$, $n = 7$). Thus, HFS-induced changes in EPSP waveform could be mimicked by blocking h-channels.

H-channels determine synaptic integration

Next, we tested whether the blockade of I_h mimicked the effects of HFS, i.e. increased apparent R_{in} , reduced sag, E-S potentiation but no change in RMP. Blocking I_h with external Cs^+ did not affect fEPSP slope ($103 \pm 5\%$, $n = 5$) but significantly reduced E-S coupling ($79 \pm 5\%$, $n = 5$). To further understand the underlying mechanisms, CA1 neurons were whole-cell recorded. Bath application of external Cs^+ (2.5 mM) or ZD-7288 (1 μ M) reduced E-S coupling measured in CA1 neurons ($27 \pm 7\%$, $n = 9$, SI **Fig. 7A**) because the hyperpolarization (-6.0 ± 1.5 mV, $n = 9$) prevented spiking evoked by EPSPs. After compensation of the hyperpolarization, Cs^+ /ZD-7288 dramatically enhanced E-S coupling ($255 \pm 50\%$, $n = 6$, SI **Fig. 7B**). H-channels do not control E-S coupling through spike-threshold modulation, since the AP threshold (defined as V_m where $dV/dt > 10$ mV/ms) was unchanged in the presence of ZD or Cs^+ (change: -0.3 ± 0.6 mV, $n = 6$, paired t-test $p > 0.05$). In conclusion, two opposite effects on E-S coupling are induced by h-channel blockers: (i) a hyperpolarization-induced E-S depression and (ii), an E-S potentiation due to the suppression of EPSP attenuation.

The fact that the sag was totally abolished, the RMP strongly hyperpolarized and the apparent R_{in} increased by $162 \pm 11\%$ indicates that a global reduction in I_h is not appropriate to reproduce the HFS-induced effects. Next, we applied external Cs^+ with a patch pipette to down-regulate h-channel activity locally in the dendrites (SI **Fig. 7C**). In these conditions, apparent R_{in} was increased ($109 \pm 2\%$, $n = 6$; MW, $p < 0.001$) without significantly changing RMP (-1.0 ± 0.3 mV, $n = 6$). This effect was specific since no change in the apparent R_{in} ($100 \pm 1\%$, $n = 6$) were observed when external saline was applied. Since local positive pressure depresses synaptic transmission (19), we used dynamic-clamp to reduce electronically G_h in the dendrite and determine integration of evoked EPSPs.

Local down-regulation of I_h with fast-dynamic clamp mimics E-S potentiation

A model of G_h was developed using the Hodgkin-Huxley formalism (see Methods for details and SI **Fig. 8A-C**) and validated with the dynamic-clamp technique by comparing the addition or subtraction of G_h with the action of pharmacological blockade of h-channels (SI **Fig. 8D-E**). Dual whole-cell soma and dendrite recordings (mean distance: 60 ± 12 μ m) were obtained and EPSPs were evoked by stimulating the SC at the same dendritic location. The dendritic pipette was linked to a dynamic-clamp device allowing injection of an anti- G_h in the dendrite (**Fig. 5A**). After monitoring the integration properties of the neuron in control conditions, the anti- G_h was injected in the dendrite to mimic the HFS-induced effects on dendritic integration. The magnitude of anti- G_h ($-1/-2.5$ nS) was adjusted to produce a 10-15% increase in apparent R_{in} tested with a hyperpolarizing current pulse (1 s, 150 pA; **Fig. 5B**) in the somatic recording ($113 \pm 1\%$, $n = 5$). In fact, the other characteristics were virtually identical to those observed following LTP induction. The sag measured at the soma was reduced (-0.3 ± 0.1 mV, $n = 5$) but RMP remained constant (0 ± 0 mV, $n = 5$) upon dendritic anti- G_h injection.

Most importantly, E-S coupling was enhanced ($139 \pm 12\%$, $n = 5$; **Fig. 5C** and **5D**). Thus, these results demonstrate that reduction of the dendritic G_h facilitates integration without affecting RMP at the soma.

Input specificity of the change in dendritic integration

E-S potentiation is input specific (13). Therefore, we examined whether the enhanced integration produced by a reduction of the dendritic G_h was also input specific. A second synaptic pathway (St2) was stimulated in the proximal apical dendrite (~ 20 - $40 \mu\text{m}$ from the cell-body layer, **Fig. 5D**). When G_h was reduced in the dendrite, the EPSP integral was differentially increased in the distal input ($125 \pm 10\%$ of the EPSP integral on St1 vs. $113 \pm 7\%$ for St2, $n = 4$; paired t-test, $p < 0.05$; **Fig. 5E**), further supporting the input-specificity of E-S potentiation. Taken together, these data confirm that the down-regulation of G_h in the dendrite accounts for the input-specific E-S potentiation observed following LTP induction (13, 16, 17).

DISCUSSION

We show here that the persistent down-regulation of I_h represents a major mechanism for the expression of long-term enhancement of synaptic integration in CA1 neurons. The electrophysiological signatures of I_h were decreased following induction of moderate LTP. This finding is physiologically important because moderate LTP (120-150%) is mostly observed *in vivo* (18). The apparent R_{in} measured with large hyperpolarizing pulses was increased and the depolarizing sag was reduced. These effects were more prominent in dendritic recordings. In addition, the blockade of I_h with external Cs^+ or ZD-7288 prevented induction of E-S potentiation but not LTP. Moreover, the modification in the EPSP waveform associated with LTP could be mimicked by pharmacological blockade of I_h . Finally, the reduction of dendritic G_h by local application of external Cs^+ or by the injection of an anti- G_h with the dynamic-clamp technique reproduced the modifications induced by HFS and enhanced integration. Thus, the down-regulation of I_h activity produced a Hebbian-like form of intrinsic plasticity because elevated synaptic activity is associated with facilitation in post-synaptic spiking.

Hebbian and homeostatic regulation of I_h

Hebbian and homeostatic plasticity are functionally opposed but they are thought to coexist in order to stabilize neuronal activity in brain circuits (20). Experimental evidence bridging the two types of plasticity was, however, missing (21, 22). Our results indicate that I_h expressed in CA1 pyramidal cell dendrites may undergo Hebbian and homeostatic plasticity in a single physiological context. Whereas very large LTP is associated with the up-regulation of h-channel activity as previously observed (6), modest synaptic potentiation is accompanied by a decrease in I_h . The down-regulation observed for

small LTP was confirmed with two other LTP induction protocols (STDP and HFS) and apparent R_{in} and LTP amplitude were inversely correlated. The switch from Hebbian to homeostatic plasticity is further supported by the fact that E-S potentiation was maximal for mild LTP whereas E-S depression was consistently observed for very large LTP. The transition from Hebbian to homeostatic plasticity probably results from the different levels of post-synaptic depolarization attained in the dendrites during conditioning. Thus, two opposite forms of intrinsic plasticity (i.e. Hebbian and homeostatic) coexist in CA1 neurons to stabilize the neuronal excitability in a physiological range (20-21).

Activity-dependent down-regulation of h-channel activity

All the hallmarks of I_h were affected following induction of LTP. Apparent R_{in} tested with large current steps was enhanced, the depolarizing sag was diminished and G_h was reduced by ~15% without affecting its activation curve. In addition, we show that blocking I_h with external Cs^+ or ZD-7288 prevented E-S potentiation without reducing LTP magnitude. The slight increase in LTP in the presence of I_h blockers was probably due to enhanced EPSP summation during HFS, thus optimizing NMDAR activation. ZD-7288 has been shown to have presynaptic effects at concentrations greater than 10 μM but not at the concentration used here (1 μM) (23). Finally, the decay of extracellular and intracellular EPSP waveforms was equally affected after LTP induction and pharmacological blockade of I_h . Following compensation of LTP by adjusting the stimulus intensity, extracellular and intracellular EPSPs were slightly prolonged (16).

Although our results support the fact that the down-regulation of I_h represents a major mechanism accounting for enhanced dendritic integration in CA1 neurons, other mechanisms might be implicated. For instance, CA1 LTP is associated with a shift in the inactivation curve of dendritic A-type K^+ current towards hyperpolarizing values, thus reducing the impact of the A-current (24). Alternatively, the activation curve of voltage-gated Na^+ channels is facilitated after LTP induction (25). In conclusion, the down-regulation of I_h activity might be associated with the regulation of other conductances that will all facilitate dendritic integration (26).

Local reduction of I_h in the dendrites facilitates dendritic integration

Our data support the fact that the down-regulation of I_h is restricted to a small dendritic region. The changes in G_h were relatively limited in amplitude. In contrast with the large hyperpolarizing shift observed when h-channel activity was globally reduced, the RMP at the soma remained largely unchanged following HFS. Injection of an anti- G_h in the dendrite differentially affected the RMP in the dendrite and the cell body.

Long-term enhancement of dendritic integration associated with LTP is input specific (13, 17). This finding has been confirmed by other studies showing that EPSP summation is facilitated in an input-specific manner following induction of LTP by an STDP protocol (27, 28). The injection of an

anti- G_h in the apical dendrite at 50-100 μm from the soma mimicked this effect. In fact, integration of the synaptic input located near the site of anti- G_h injection was enhanced whereas the integration of another input located closer to the soma remained largely unaffected. Our experimental results are compatible with mathematical models of synaptic integration in active dendrites. E-S potentiation simulated by adding local hot spots of depolarizing conductances in dendrites tends to be specific if the untetanized contacts are electrically closer to the soma than the tetanized contacts or if they are segregated to different primary dendrites (29). Thus, input specific changes in dendritic integration are possible if I_h is locally reduced in the dendrites.

I_h may control dendritic integration via regulation of RMP. Global blockade of I_h induced a large hyperpolarization that produced E-S depression. More specifically, local electronic suppression of G_h in the dendrite affected RMP in the dendrite more than in the soma. This local hyperpolarization might affect the gating of many dendritic channels that shape the EPSP, thus altering integration. For instance, it may favor the recovery from inactivation of A-type K^+ channels, a major channel type in dendrites (30). In addition, the slight hyperpolarization might also decrease EPSP-amplification mediated by Na^+ channels (31). This hypothesis will require further studies but it is reasonable to believe that these two effects may attenuate integration of neighboring inputs. Thus, the down-regulation of I_h is compatible with the homosynaptic E-S potentiation and heterosynaptic E-S depression observed simultaneously after LTP induction (13).

E-S coupling is a complex operation in which any modification in EPSP waveform or spike threshold could produce a significant change. Although I_h determines EPSP amplitude and duration (8), its role in EPSP slope or spike threshold is negligible. Because the time constant of I_h is more than one order of magnitude slower than the EPSP rise time (~ 50 ms vs. 2-3 ms), I_h blockers have no effect on EPSP-slope during the first two milliseconds. For the same reasons, the AP threshold was virtually unaffected by ZD-7288. Thus, regulation of h-channels controls E-S coupling through the control of EPSP amplitude and decay.

Mechanisms for down-regulation of I_h

The homeostatic up-regulation of I_h requires NMDAR activation (6). Interestingly, the Hebbian down-regulation of I_h also depends on activation of NMDARs permeable to Ca^{2+} ions. Thus, induction of both types of I_h regulations requires post-synaptic Ca^{2+} influx. The transition from Hebbian to homeostatic changes might be due to increment in $[Ca^{2+}]$ recruiting different Ca^{2+} -sensors. This kind of scenario has already been implicated in the transition from LTD to LTP (32) but further studies will be required to identify the signaling pathways. Ca^{2+} -dependent protein kinases could be involved in linking Ca^{2+} transients to a persistent modification in I_h . One may speculate that the postsynaptic Ca^{2+} influx mediated by NMDAR may lead to the down-regulation of I_h via activation of protein kinase C (PKC). Acute down-regulation of I_h induced by neuromodulators (33) and the facilitation in EPSP

summation associated with LTP are mediated by PKC (27). Calcium/calmodulin kinase II (CaMKII) could also be involved (6) although the effects of CaMKII on I_h -channel activity remain unknown. Other mechanisms could be envisaged since brain-derived neurotrophic factor (BDNF) proposed as a key actor in LTP, down-regulates I_h in respiratory neurons (34). Further investigation will be required to circumscribe the cellular and molecular mechanisms of dendritic I_h -channel regulation.

METHODS

Slice preparation and electrophysiology. Hippocampal slices were obtained from 15- to 27-day-old rats according to institutional guidelines for the care and use of laboratory animals (Directive 86/609/EEC and French National Research Council). Slices (350 μ m) were cut in a solution (in mM: sucrose, 280; NaHCO_3 , 26; D-glucose, 10; KCl, 1.3; CaCl_2 , 1; MgCl_2 , 10) and were maintained for 1 h at room temperature in oxygenated (95% O_2 /5% CO_2) artificial cerebrospinal fluid (ACSF; in mM: NaCl, 125; KCl, 2.5; NaH_2PO_4 , 0.8; NaHCO_3 , 26; CaCl_2 , 3; MgCl_2 , 2; D-Glucose, 10). Each slice was transferred to a temperature-controlled (29°C) chamber with oxygenated ACSF. GABA_A channels were blocked with PiTX and the CA1 area was surgically isolated.

Field-potentials were recorded using glass microelectrodes filled with 3M NaCl. For CA1 pyramidal neuron whole-cell recordings, electrodes were filled with a solution containing (in mM): K-gluconate, 120; KCl, 20; HEPES, 10; EGTA, 0.5; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2; Na_2ATP , 2. Stimulating pipettes were filled with extracellular saline. LTP was induced with 3 protocols. In most experiments, LTP was induced with 10 bursts of 10 shocks at 100 Hz (HFS). The bursts were delivered at 0.3 Hz. LTP was also induced by pairing subthreshold synaptic stimulation with back-propagated APs (bAPs) at theta frequency (5 Hz, TBP). Here, 3 trains of 10 burst were repeated at 0.1 Hz, with each burst composed of 5 EPSPs paired with 5 bAPs (delay +5 ms) at 100 Hz. Finally, LTP was also induced by pairing single EPSPs with single bAP at 0.33 Hz (STDP, delay +5/+50 ms, 100 repetitions). Drugs were bath applied. PiTX were purchased from Sigma and ZD-7288 and D-AP5 from Tocris-Cookson.

Data acquisition and analysis. Recordings were obtained using an Axoclamp-2B amplifier, Acquis1 and pClamp8 softwares. Data were analysed with IGOR pro. Only perfectly stable recordings were included in final analysis. Recordings were rejected when bridge balance varied more than 10%. Pooled data are presented as mean \pm SE.

Characterization of I_h was assessed in the presence of TTX (500 nM), PiTX (100 μ M), kynurenate (2 mM), Ni^{2+} (200 μ M), TEA (5 mM) & 4-AP (100 μ M). Subtraction of control records from those obtained after ZD-7288 (50 μ M) application allowed isolation of I_h . Activation was assessed by voltage steps from a potential of -50 mV to -60/-120 mV. Deactivation was analyzed in tail-currents evoked by stepping from -75 mV to -70/-45 mV. All currents were fitted with mono-exponential functions (SI Fig. 8A). Activation and deactivation time constants were averaged and plotted (SI Fig. 8B). Reversal

potential (E_h) was determined by linear extrapolation of the tail-current amplitude (-37.7 ± 0.9 mV, $n = 3$).

Model of G_h . A model of G_h using the Hodgkin-Huxley formalism was developed. Details are described in *SI Methods*.

Dynamic-clamp. To add or subtract G_h in dendrites, a dynamic-clamp system was developed (35). Details are described in *SI Methods*.

Acknowledgements

We thank L. Fronzaroli for technical assistance, TVP Bliss, BH Gähwiler, JM Goaillard and M Seagar for comments on the manuscript, and O Caillard for discussion. Supported by *CNRS*, *INSERM* (*Avenir* to DD), *FRM* & *Ministry of Research*.

References

1. Reyes A (2001) Influence of dendritic conductances on the input-output properties of neurons. *Annu Rev Neurosci* 24:653-675.
2. Magee JC (1998) Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 18:7613-7624.
3. Poolos NP, Migliore M, Johnston D (2002) Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* 5:767-774.
4. Chen K, Aradi I, Thon N, Eghbal-Ahmadi M, Baram TZ, Soltesz I (2001) Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* 7:331-337.
5. van Welie I, van Hooft JA, Wadman WJ (2004) Homeostatic scaling of neuronal excitability by synaptic modulation of somatic hyperpolarization-activated I_h channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:5123-5128.
6. Fan Y, Fricker D, Brager DH, Chen X, Lu HC, Chitwood RA, Johnston D (2005) Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in I_h . *Nat Neurosci* 8:1542-1551.
7. Spruston N, Jaffe DB, Johnston D (1994) Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties. *Trends Neurosci* 17:161-166.

8. Magee JC (2000) Dendritic integration of excitatory synaptic input. *Nat Rev Neurosci* 1:181-190.
9. Bliss TV, Lømo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.
10. Andersen P, Sundberg SH, Sveen O, Swann JW, Wigstrom H (1980) Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *J Physiol* 302:463-482.
11. Abraham WC, Gustafsson B, Wigstrom H (1987) Long-term potentiation involves enhanced excitation relative to synaptic inhibition in guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 394:367-380.
12. Bliss TV, Lømo T, Gardner-Medwin AR (1973) in *Macromolecules and Behaviour*, ed. Ansell, G. & B. P. B. (MacMillan, London), pp. 193-203.
13. Daoudal G, Hanada Y, Debanne D (2002) Bidirectional plasticity of excitatory postsynaptic potential (EPSP)-spike coupling in CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:14512-14517.
14. Staff NP, Spruston N (2003) Intracellular correlate of EPSP-spike potentiation in CA1 pyramidal neurons is controlled by GABAergic modulation. *Hippocampus* 13:801-805.
15. Marder CP, Buonomano DV (2003) Differential effects of short- and long-term potentiation on cell firing in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurosci* 23:112-121.
16. Hess G, Gustafsson B (1990) Changes in field excitatory postsynaptic potential shape induced by tetanization in the CA1 region of the guinea-pig hippocampus. *Neuroscience* 37:61-69.
17. Campanac E, Debanne D (2008) Spike timing-dependent plasticity: a learning rule for dendritic integration in rat CA1 pyramidal neurons. *J Physiol (in press)*
18. Abraham WC, Logan B, Greenwood JM, Dragunow M (2002) Induction and experience-dependent consolidation of stable long-term potentiation lasting months in the hippocampus. *J Neurosci* 22:9626-9634.
19. Fagni L, Zinebi F, Hugon M (1987) Evoked potential changes in rat hippocampal slices under helium pressure. *Exp Brain Res* 65:513-519.
20. Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5:97-107.

21. Debanne D, Daoudal G, Sourdet V, Russier M (2003) Brain plasticity and ion channels. *J Physiol Paris* 97:403-414.
22. Zhang W, Linden DJ (2003) The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* 4:885-900.
23. Chevaleyre V, Castillo PE (2002) Assessing the role of I_h channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:9538-9543.
24. Frick A, Magee J, Johnston D (2004) LTP is accompanied by an enhanced local excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* 7:126-135.
25. Xu J, Kang N, Jiang L, Nedergaard M, Kang, J (2005) Activity-dependent long-term potentiation of intrinsic excitability in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 25:1750-1760.
26. Daoudal G, Debanne D (2003) Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* 10:456-465.
27. Wang Z, Xu NL, Wu CP, Duan S, Poo MM (2003) Bidirectional changes in spatial dendritic integration accompanying long-term synaptic modifications. *Neuron* 37:463-472.
28. Xu NL, Ye CQ, Poo MM, Zhang XH (2006) Coincidence detection of synaptic inputs is facilitated at the distal dendrites after long-term potentiation induction. *J Neurosci* 26:3002-3009.
29. Wathey JC, Lytton WW, Jester JM, Sejnowski TJ (1992) Computer simulations of EPSP-spike (E-S) potentiation in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurosci* 12:607-618.
30. Hoffman DA, Magee, JC, Colbert CM, Johnston D (1997) K^+ channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Nature* 387:869-875.
31. Lipowsky R, Gillessen T, Alzheimer C (1996) Dendritic Na^+ channels amplify EPSPs in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 76:2181-2191.
32. Lisman J (1989) A mechanism for the Hebb and anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:9574-9578.
33. Cathala L, Paupardin-Tritsch D (1997) Neurotensin inhibition of the hyperpolarization-activated cation current (I_h) in the rat substantia nigra pars compacta implicates the protein kinase C pathway. *J Physiol* 503:87-97.

34. Thoby-Brisson M, Cauli B, Champagnat J, Fortin G, Katz DM (2003) Expression of functional tyrosine kinase B receptors by rhythmically active respiratory neurons in the pre-Bötzinger complex of neonatal mice. *J Neurosci* 23:7685-7689.
35. Prinz AA, Abbott LF, Marder E (2004) The dynamic clamp comes of age. *Trends Neurosci* 27:218-224.

Fig. 1. Regulation of I_h depends on LTP magnitude. A, Large TBP-induced LTP (225%) is accompanied by an *increase* in I_h . Upper graph, time-course of LTP. Lower graph, time course of the apparent R_{in} measured with a large hyperpolarizing pulse of current (-100 pA, 1s). Middle traces, family of voltage deflections measured at constant V_m in response to a series of current pulses (-20/-100 pA) before and 30 min after TBP. B, Moderate TBP-induced LTP (125%) is associated with a *decrease* in h-channel activity. Note the increase in the amplitude of the hyperpolarization after TBP (middle traces and lower plot). C, normalized hyperpolarization amplitude vs. normalized EPSP slope for TBP, STDP and HFS (empty symbols, not significant changes). A significant linear anti-correlation was observed ($y = -0.062x + 115$, $R = 0.41$ $p < 0.005$).

Fig. 2. Long-lasting decrease in I_h after HFS. A, Current-clamp analysis. Top, time-course of LTP in control (red) or in the presence of D-AP5 (gray). Upper traces, EPSPs and representative voltage traces evoked by large hyperpolarizing pulses of current (-100 / -150 pA, 0.8-1s), before and after LTP. HFS induced LTP and enhanced the apparent R_{in} (superimposed traces, before (black) and after HFS (red)). Bottom, summary of changes in apparent R_{in} (left), depolarizing sag (middle) and RMP (right) (*, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$). B, Voltage-clamp analysis. Top, time-course of the maximal G_h . Representative traces showing EPSC potentiation (upper traces) and reduction in I_h (lower traces). Bottom, normalized conductance-voltage relations before (●) or after HFS (○). Amplitudes were measured at the plateau (800 ms). Values of G_h were fitted with Boltzmann functions.

Fig. 3. Local increase in apparent R_{in} in the dendrite after LTP induction. A, left, position of recording and stimulating pipettes (inset) on the cell-body (S) and the dendrite (D) of a CA1 pyramidal neuron (scale bar 10 μm). Middle, superimposed EPSPs before and after HFS recorded in the soma. Right, voltage responses to hyperpolarizing current pulses injected in the dendrite (left) or the soma (right), before (black) and after (red) LTP induction. Note the increased apparent R_{in} when current is injected in the dendrite. To minimize bridge errors, voltage deflections measured with the electrode that did not inject current were normalized and these values (underlined) were retained for further analysis. B, left, normalized hyperpolarization amplitude measured when the current is injected in the soma (S)

and the dendrite (D). Middle, changes in sag amplitude (delta SAG). Right, change in RMP. C, plot of apparent R_{in} vs. the EPSP slope. Note the correlation ($y = -0.092x + 129.08$, $R = 0.47$).

Fig. 4. Occlusion of E-S potentiation by I_h blockers. A, LTP (left) and E-S potentiation (right) induced by HFS (100 Hz, black triangle) in a representative slice. Dashed areas correspond to the test of E-S coupling. Right, population spike (PS) amplitude as a function of EPSP slope before and after HFS. B, I_h blockers prevented induction of E-S potentiation but not LTP. E-S curves before (gray) and after LTP in the presence of Cs^+ or ZD-7288. C, summary of normalized EPSP slope (left) and E-S changes (right) after HFS.

Fig. 5. Dynamic-clamp reduction of dendritic G_h mimics E-S potentiation. A, recording configuration: dual soma-dendrite recording. The anti- G_h was injected through the dendritic electrode (D) whereas E-S coupling was evaluated with the somatic electrode (S). Control (black) and anti- G_h (purple) traces recorded at D and S. Effects of anti- G_h on apparent R_{in} , sag and RMP ($n = 5$). B, Dendritic anti- G_h produced E-S potentiation. Firing probability vs. EPSP slope in control (black) and with dendritic anti- G_h (purple). C, Summary of the effects of dendritic anti- G_h on E-S coupling. D, recording configuration. E, normalized EPSP integral for each input when anti- G_h was injected. The change in the control input (St1) was always smaller than in the test input (St2).

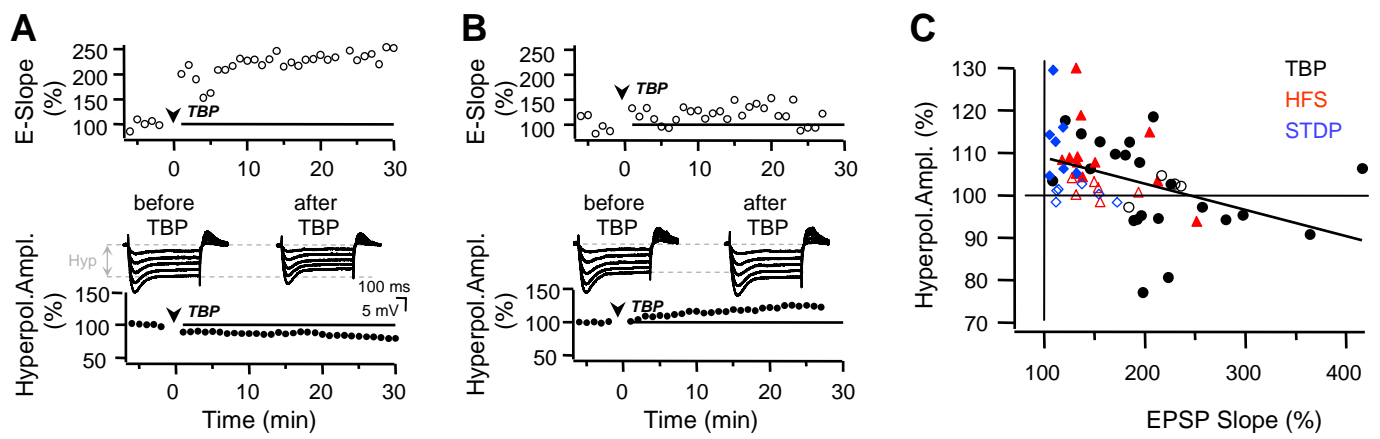


Figure 1

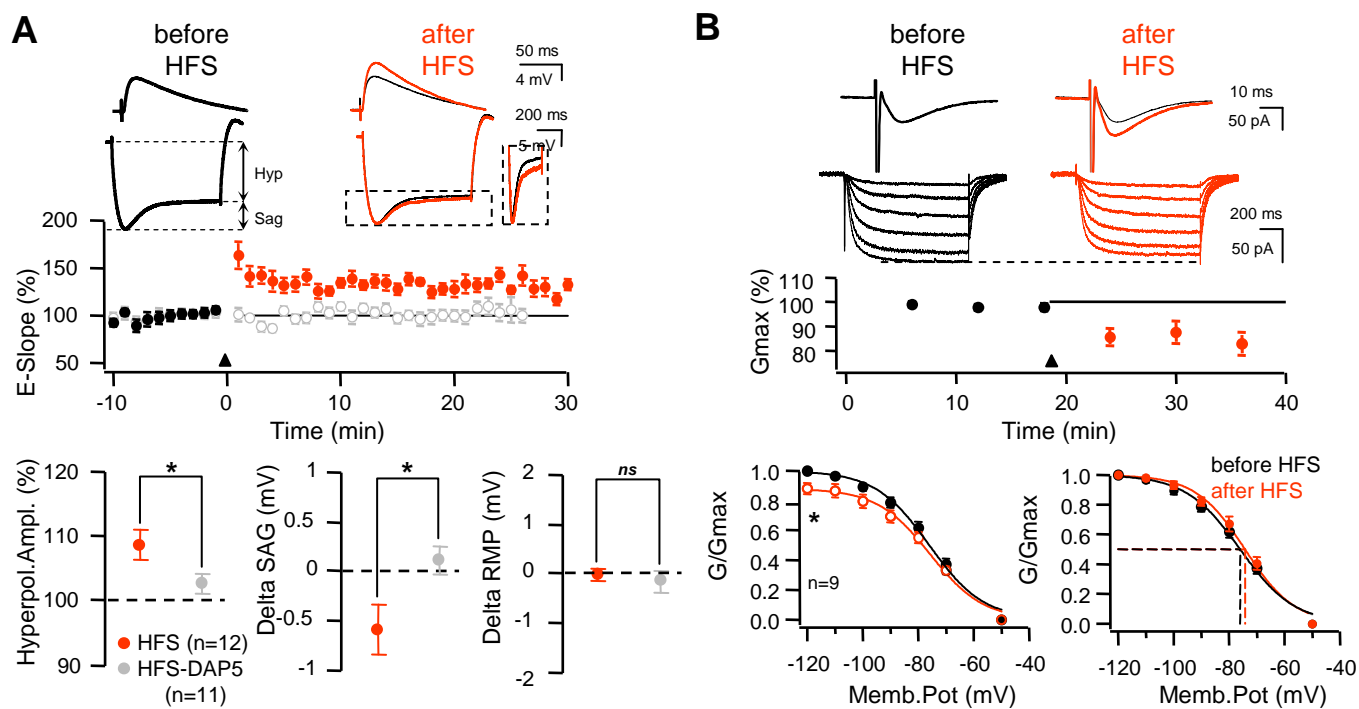


Figure 2

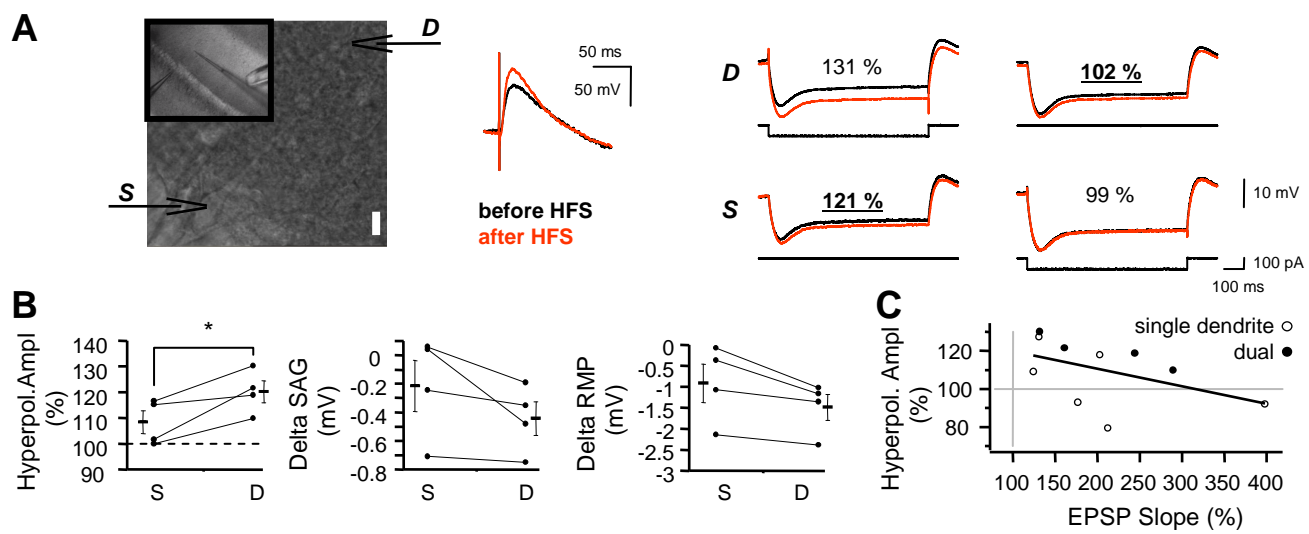


Figure 3

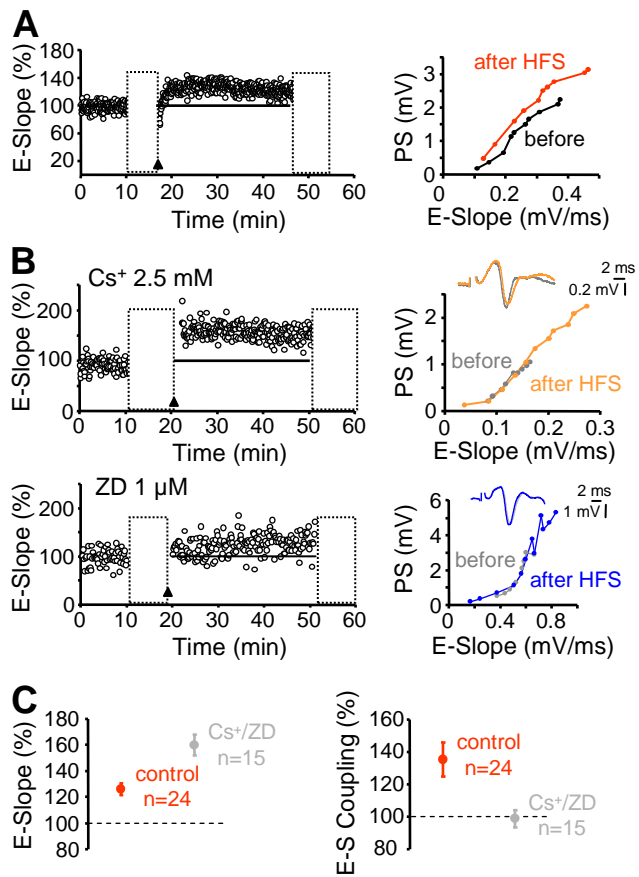


Figure 4

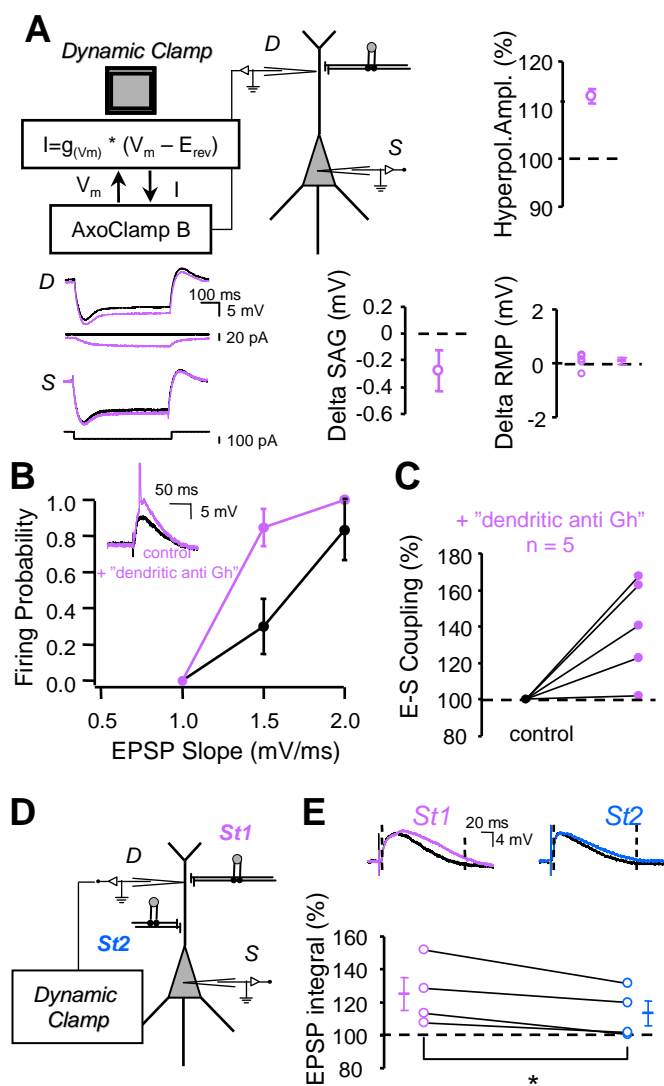


Figure 5

*Supplemental information***Hebbian regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP**^{1,2}Emilie Campanac, ^{1,2}Gaël Daoudal, ^{1,2}Norbert Ankri & ^{1,2}Dominique Debanne***METHODS**

Model of G_h . Equations describing the voltage-dependence of G_h were based on a deterministic Hodgkin-Huxley model with 1 variable (n , the gating particle for activation) which obeys first order kinetics. The h -current was given by: $I_h = G_h(V_m - E_h)$, with V_m , the membrane potential, $E_h = -37.7$ mV and the h -conductance $G_h = G_{hmax}n$. The activation and deactivation time constants were determined by fitting experimental data (see above).

The differential equation $dn(V, t) / dt = \alpha(V) [1 - n(V, t)] - \beta(V) n(V, t)$ was solved. This equation corresponds to $d(V, t) / dt = [n_\infty(V) - n(V, t)] / \tau(V)$ with the steady-state activation parameter as $n_\infty(V) = \alpha_n(V) / [\alpha_n(V) + \beta_n(V)]$, and the activation time constant $\tau(V) = 1$ for $V > -30$ mV otherwise $\tau(V) = 1 / [\alpha_n(V) + \beta_n(V)]$ with

$$\alpha_n = 0.0204 / 1 + \exp[(V + 98.68) / 13.24]$$

$$\beta_n = 0.0176 / 1 + \exp[-(V + 57.96) / 13.2]$$

Dynamic Clamp. The system of dynamic-clamp consisted of an embedded processor with real-time operating system which was programmed and controlled from a host PC computer with the graphical language LabView 7-Express containing the LabView Real-Time module. The feedback loop ($F = 38$ kHz) continuously read the membrane potential V_m from the Axoclamp-2B, computed G_h and generated an output, I_h according to the equation: $I_h = G_h(V_m - E_h)$. A reconfigurable I/O module (NI PXI-7831R) allowed monitoring of V_m and generation of I_h . The access speed of analog-digital and digital-analog conversions on the input/output module was optimized by a field-programmable gate array (FPGA).

To minimize calculations during the calculation loop, specific arrays of $\tau(V)$ and $n_\infty(V)$ were initialized with a resolution of 0.1 mV. For a given voltage, corresponding values of $\tau(V)$ and $n_\infty(V)$

were obtained by linear interpolation from the array. The numerical integration based on Euler's method, involved a simple linear extrapolation of the gating variable given by the equation:

$$n_{k+1} = n_k + (n_{\infty} - n_k)dt$$

An Axoclamp-2B amplifier (Axon Instruments) was used for dynamic-clamp experiments and the bridge balance was monitored continuously to minimize series resistance artifacts. Only recordings with series resistance <25 MΩ were kept for further analysis.

The model was validated with addition and subtraction of the h-conductance (**Fig. 8D & 8E**). Families of voltage traces evoked by depolarizing and hyperpolarizing pulses of current (+50/-50 pA) were recorded in controls. In the presence of 5 mM Cs⁺ in the external saline the input resistance increased and the depolarizing sag was suppressed. The addition of the simulated h-conductance with the dynamic clamp (range: 5-7 nS, n=3) decreased the input resistance and restored the sag. In fact, voltage signals recorded in these conditions (Cs⁺ + I_h Dyn) were virtually identical to the control traces. Conversely, the injection of an anti-h conductance increased the input resistance and suppressed the sag (**Fig. 8E**). An external digital device (microcontroller PIC-16F876A (Microchip®)) was used to facilitate the adjustment of the values of G_h during the experiment. Thus, digitized values of this variable were directly read in real time by the I/O module.

Figure legends

Figure 6. E-S potentiation depends on the magnitude of LTP. Normalized E-S changes as a function of synaptic potentiation. Note that maximal E-S potentiation is obtained for moderate potentiation (120-140%) while E-S depression is consistently observed for maximal potentiation (>160%). Black squares, mean changes in E-S coupling calculated in classes of 25%. Stars indicate statistically significant differences (Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$).

Figure 7. Control of E-S coupling by h-channels. A, h-channel blockade hyperpolarized the neuron and depressed E-S coupling. Upper, bath application of Cs⁺ (2.5 mM) or ZD-7288 (1 μM) depressed E-S coupling (upper left) and hyperpolarized the neuron (bottom left). Right, summary of the effect of Cs⁺ and ZD-7288 on E-S coupling (n = 9) and on the resting membrane potential. B, h-channel blockade enhanced E-S coupling at constant potential. When the potential at the cell body was kept constant with DC current injection, Cs⁺ or ZD-7288 enhanced the E-S coupling (n = 6). C, local perfusion of Cs⁺ was able to decrease I_h without affecting the RMP measured at the soma. Left, Cs⁺ application was visualized with Alexa-568 (100 μM). The pipette filled with Cs-Alexa was positioned on the surface of the slice at 60-100 μm from the soma and the diameter of the Cs-Alexa stream was estimated to be approximately 60-70 μm. Right, changes in RMP and in apparent input resistance. The amplitude of the sag was decreased by -0.3 ± 0.1 mV (n = 6). No change in the amplitude of the hyperpolarization was observed when the external saline was applied.

Figure 8. Characterization of I_h in CA1 Pyramidal neurons and modeling. A, Currents were isolated after subtracting control currents from those generated in the presence of ZD-7288 (see methods). Left, h-channels were activated by holding the cell at -50 mV and stepping to -120 mV with 10 mV increments. Currents generated were well fitted with a monoexponential function (black lines). Right, deactivation of h-channels was studied in neurons held at -75 mV by stepping to -45 mV with 5 mV increments. The data were also well fitted with a monoexponential function. B, Normalized conductance-voltage (G-V) relation was estimated from the currents shown in A. The modeled activation curve is represented in red. C, The mean activation (filled circles) and deactivation (open squares) time constants plotted against the membrane potential. D and E, validation of the model with the fast dynamic-clamp technique. CA1 pyramidal cells were recorded in the whole-cell configuration. Families of voltage traces evoked by depolarizing and hyperpolarizing pulses of current (+50/-50 pA) were recorded in different conditions: control (top), in the presence of Cs^+ (D, middle), Cs^+ and dynamic G_h (D, bottom) or with dynamic anti- G_h (E, bottom). The respective families of dynamic currents are illustrated below (I_{dyn}).

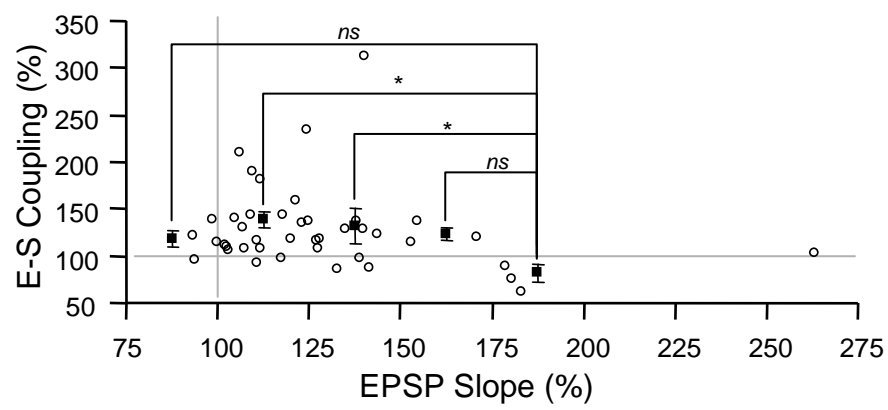


Figure 6

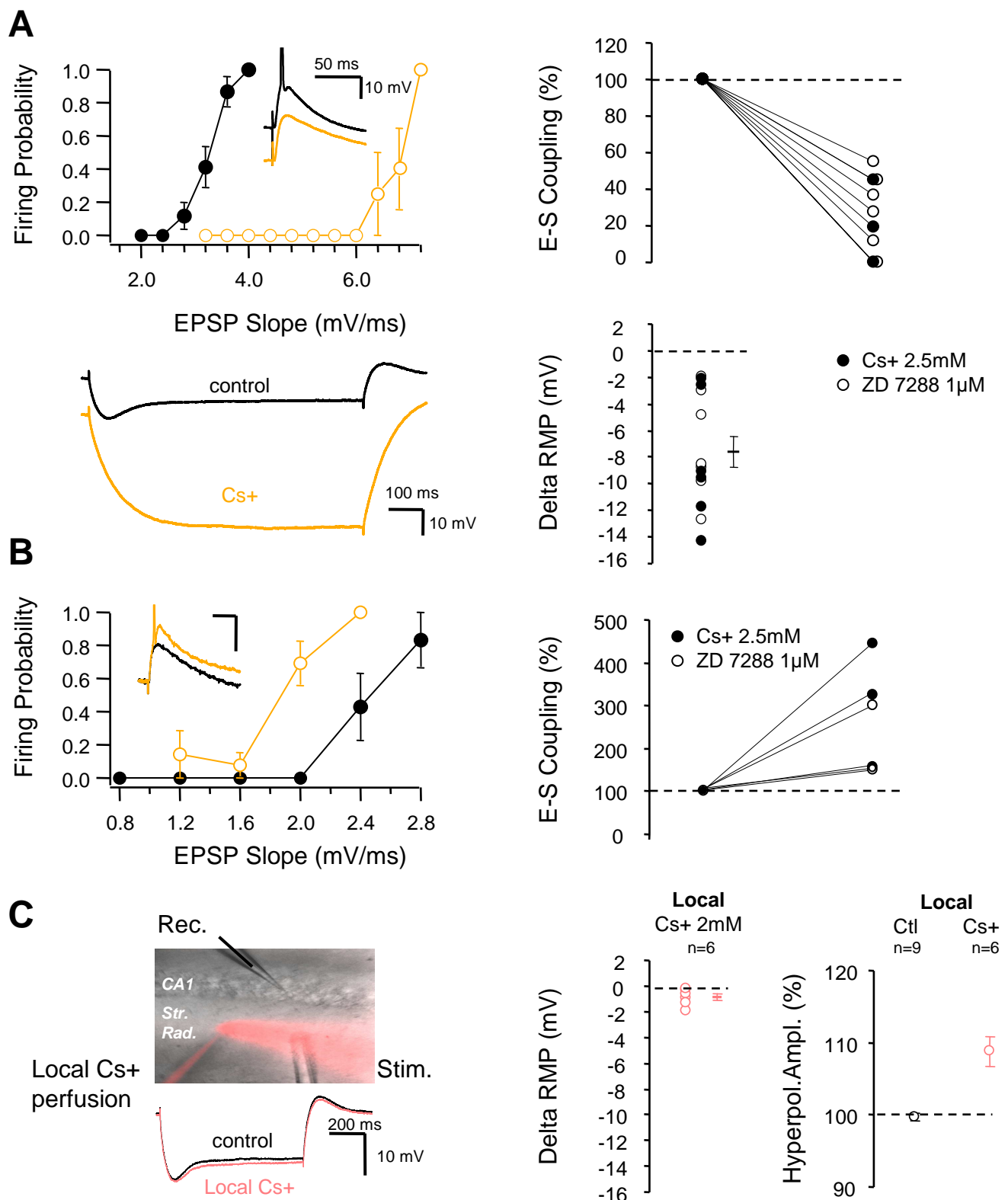


Figure 7

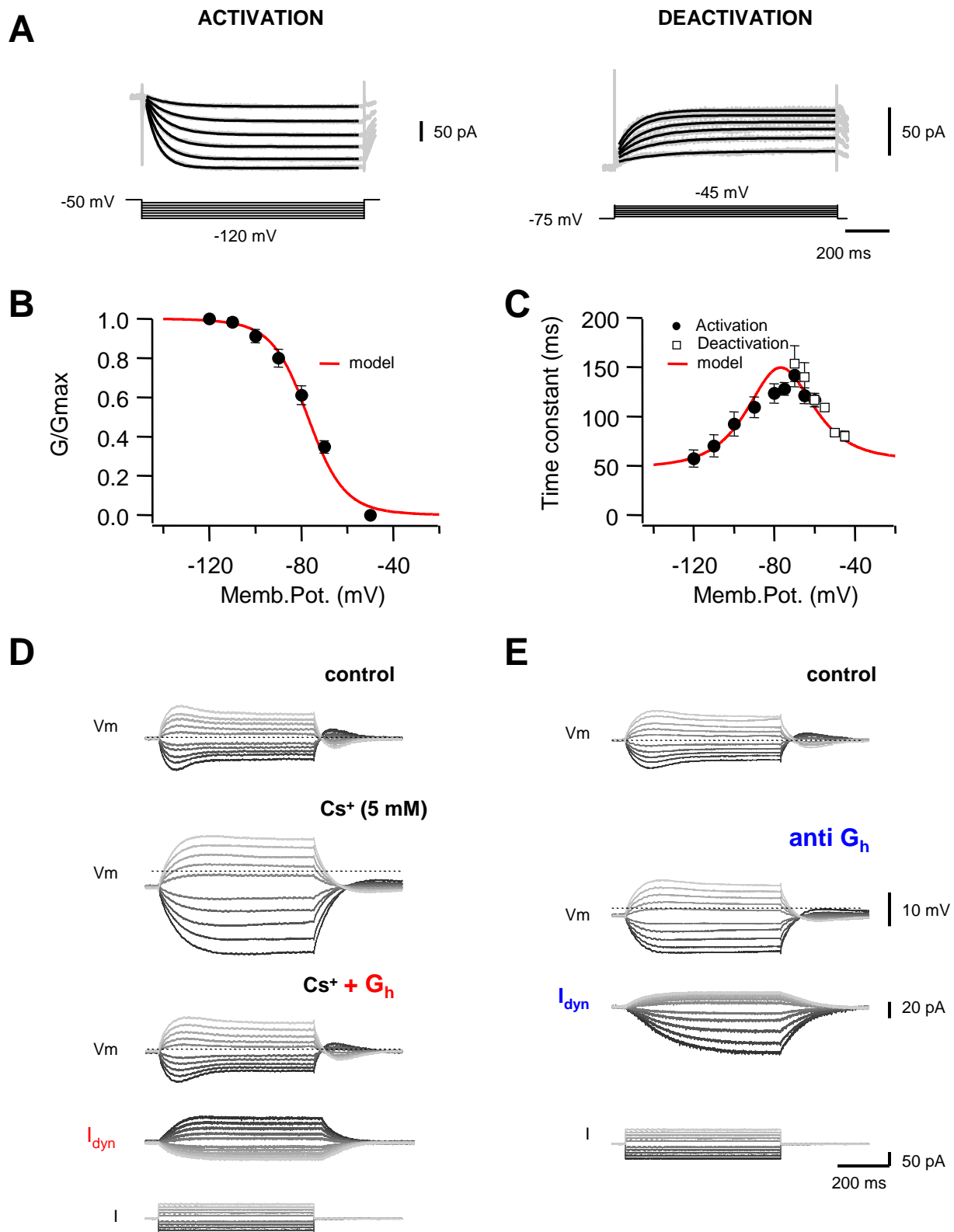


Figure 8

3.3. Article 3: Long-term potentiation of intrinsic excitability (LTP-IE) in clustered-spiking hippocampal interneurons

Campanac E., Giraud P., Baude A. et Debanne D.
(in preparation)

Brief communication

Long-term potentiation of intrinsic excitability (LTP-IE) in clustered-spiking hippocampal interneurons

^{1,2}Emilie Campanac, ^{1,2}Pierre Giraud, ^{2,3}Agnès Baude & ^{1,2*}Dominique Debanne

¹INSERM U641, Marseille, F-13916 France

²Université de la Méditerranée, Faculté de médecine secteur nord, IFR 11,

³CNRS CNR2M UMR6231, Marseille, F-13916 France

*To whom correspondence should be addressed,

Tel: (+33) 4 91 69 87 45

Fax: (+ 33) 4 91 09 05 06

E-mail: dominique.debanne@univmed.fr

10 pages, 4 figures

Key words: Intrinsic plasticity, interneurons, metabotropic glutamate receptor, hippocampal network

Long-term potentiation of intrinsic excitability (LTP-IE) is induced in pyramidal neurons upon activation of excitatory synaptic receptors but whether GABAergic interneurons also express intrinsic plasticity remains unclear. We report here that clustered-spiking CA1 interneurons selectively express type I metabotropic glutamate receptor (mGluR)-dependent LTP-IE. This plasticity constitutes a potent homeostatic process to prevent runaway excitation in highly active hippocampal circuits.

A general question in the study of functional plasticity is to determine how plasticity is distributed in the hippocampus and activity is maintained in non-pathological bounds. In the CA1 region of the hippocampus, long-term synaptic potentiation (LTP) induced by high frequency stimulation or by positive correlation between pre- and post-synaptic activity is associated with a long-term facilitation in EPSP-spike coupling (Bliss et al., 1973; Andersen et al., 1980; review in Daoudal & Debanne, 2003). In vitro studies have shown excitability changes are, at least in part, intrinsic to postsynaptic neurons (Daoudal et al., 2002; Wang et al., 2003; Frick et al., 2004; Xu et al., 2005; Campanac & Debanne, 2008). The only mechanisms known for counterbalancing this increased excitability in pyramidal neurons are either the homeostatic up-regulation of the dampening h-conductance (Fan et al., 2005) or the EPSP-spike depression associated with LTD induction (Daoudal et al., 2002; Wang et al., 2003; Campanac & Debanne, 2008). All these regulations control excitability in principal neurons. Alternatively, limited excitation in the hippocampal circuit might be achieved by enhancing the drive of inhibitory interneurons. LTP of excitatory synaptic transmission in GABAergic interneurons represents one possible mechanism (review in Kullmann and Lamsa, 2007). An equally efficient way to limit runaway excitation in hippocampal circuits is to consider that intrinsic excitability of inhibitory interneurons could be persistently facilitated. Short-term (<3 min), metabotropic glutamate receptor (mGluR)-dependent increase in excitability has been reported in CA3 interneurons (Miles & Poncer, 1993) but expression of LTP-IE has not yet been reported in hippocampal interneurons. We show here that a subpopulation of CA1 interneurons display a type I mGluR-dependent LTP-IE.

RESULTS

All the experiments were performed in the presence of 100 μ M PiTX to block GABA_A receptor-mediated inhibition. To avoid epileptiform activity, the CA1 region was surgically isolated. Stable whole-cell patch-clamp recordings were obtained from CA1 interneurons with a cell body located near the border between the *stratum pyramidale* and the *stratum radiatum*. Occasionally, their morphology was identified with biocytin labeling. The two principle types of interneurons encountered there were regular spiking (RS, 47%, **Fig. 1A**) and clustered-spiking (CS, 33%) interneurons (**Fig. 1B**). In contrast with CA1 pyramidal neurons, RS interneurons exhibited a non-adapting firing, a large AHP, no or little depolarizing sag upon injection of negative pulses of current and a large input resistance (**Table 1**). Their axonal arborization generally projected on the stratum radiatum and the stratum

oriens, indicating that they are putative bi-stratified cells. In addition, their dendrites had no spines. CS interneurons had typically very fast APs (<1 ms at half-amplitude), a deep AHP (15-25 mV) and fired in a cluster mode with a high variability from trial to trial (see **Table 1**). Their dendrites mostly extended in the *stratum radiatum* and in 7 out of 9 neurons, their axonal projection was preferentially distributed within and close to the *stratum pyramidale*, indicating that they were mostly putative basket-cells (Somogyi & Klausberger, 2005).

Stimulation of Schaffer collaterals evoked excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) sub-threshold for evoking action potentials. A pulse of depolarizing current (800 ms) was injected in the neuron to produce on average 8-10 spikes in control conditions. After recording a baseline, high frequency stimulation (HFS) was delivered to the synaptic pathway. In RS interneurons, HFS had virtually no effect on intrinsic excitability (IE, normalized spike number measured 15-30 minutes after HFS: $88 \pm 7\%$, $n = 11$ cells; **Fig. 2A**). In contrast, HFS produced a transient (~ 6 min) increase in IE in CS interneurons (STP-IE_{CS}, $319 \pm 108\%$ at +1 min) followed by a stable plateau of potentiation referred to as LTP-IE_{CS} (normalized spike number measured 15-30 minutes after HFS: $141 \pm 28\%$, $n = 7$; **Fig. 2B**). Resting-membrane potential was transiently depolarized ($104 \pm 1\%$ at +1 min) but remained unchanged at 15-30 minutes ($100 \pm 0\%$, $n = 7$). Input resistance was not changed during the expression of LTP-IE_{CS} ($98 \pm 3\%$, $n = 7$).

Several forms of activity-dependent long-term functional plasticity in hippocampal GABAergic interneurons involve AMPA, NMDA or mGlu receptors (Kullmann & Lamsa, 2007). To test whether AMPA or NMDA receptors are required for induction of LTP-IE_{CS}, HFS was delivered in the presence of 2 mM kynurenatate. HFS produced no STP-IE_{CS} ($152 \pm 6\%$ at +1 min) but only a slowly developing increase in IE ($177 \pm 25\%$, $n = 6$, **Fig. 2C**). Thus, AMPA or NMDA receptor activation does not play a critical role in LTP-IE_{CS} induction. Next, the role of mGluR activation was tested. Bath application of the type I mGluR agonist, DHPG (20 μ M) had no effect on the excitability of RS ($91 \pm 11\%$, $n = 7$) but perfectly mimicked HFS-induced LTP-IE in CS (**Fig. 3A-B**). Both STP-IE ($397 \pm 47\%$, $n = 5$ at +1 min) and LTP-IE were observed ($169 \pm 42\%$, $n = 5$; **Fig. 3B**). Similar results were observed with the mGluR5-selective agonist, CHPG (200-500 μ M). CHPG had no effect on RS interneuron excitability ($74 \pm 8\%$, $n = 8$) but mimicked the HFS-induced LTP-IE in CS neurons ($234 \pm 60\%$, $n = 11$); **Fig. 3C-D**). Taken together these results suggest that synaptic activation of type I mGluR induces LTP-IE in CS interneurons from the area CA1.

DISCUSSION

We show that CS, but not RS interneurons express STP-IE followed by LTP-IE when the Schaffer collaterals were stimulated at high frequency or when the type I mGluR agonists, DHPG or CHPG were bath applied. LTP-IE was still observed in the presence of the AMPA/NMDA receptor antagonist kynurenatate indicating that these receptors did not play a major role in its induction and thus confirming the implication of mGluRs. However, the short-term component was absent in the

presence of kynurenate, suggesting that activation of the polysynaptic CA1 circuit is necessary for induction of STP-IE, possibly involving mGluRs from CA1 pyramidal cell-CS interneuron synapses (**Fig. 4**). All these results were obtained in the presence of the GABA_A receptor channel blocker PiTX, indicating that a change in the tonic inhibitory drive is not responsible for this form of plasticity. The persistent increase in intrinsic excitability was not due to a change in input resistance or to a shift in membrane potential, indicating that its expression mechanism may involve voltage-gated ionic conductance.

Long-term depolarization of the resting membrane potential (~8 mV) induced by HFS has been reported in dentate gyrus interneurons (Ross & Soltesz, 2001). This plasticity requires activation of Ca²⁺-permeable AMPA receptors and involves the regulation of the electrogenic Na⁺/K⁺ ATPase pump. Although the induction paradigm is similar the induction and expression mechanism of LTP-IE in CS interneurons are clearly different since no change in RMP was observed after HFS and the block of AMPA receptor with kynurenate did not prevent induction of LTP-IE. The expression mechanism has not been yet identified but type I mGluR signalling pathway may possibly down-regulate dampening conductances such as the small conductance, Ca²⁺-activated potassium current (Sourdet et al., 2003).

Compared to CS, RS interneurons were weakly responsive to both DHPG and CHPG, suggesting that either mGluR1/5 would be preferentially located on CS or that the signalling cascade is specifically present in these neurones. Such a large heterogeneity of mGluR agonist sensitivity has already been reported. The fact that CHPG or DHPG produced a similar response on CS cells suggests that it might be mediated by mGluR5. This conclusion is supported by the fact that basket cells are not immunopositive for mGluR1 (Ferraguti et al., 2004). Most CS interneurons expressing LTP-IE had basket cell morphology with an axonal arborisation restricted within the pyramidal cell layer. CS interneurons displayed a firing pattern that is compatible with cannabinoid 1 receptor (CB1R)-negative basket cells (Glickfeld & Scanziani, 2006). However, confirmation of this possible identification will require parvalbumin and CCK immunolabelling (Freund & Katona, 2007). Compared to RS, CS interneurons have a 3 fold lower input resistance and a much higher activation threshold, suggesting that RS interneurons would be preferentially recruited during basal ongoing activity. Their morphology indicates that they may correspond in most cases to putative bi-stratified cells. Following intense network activity, LTP-IE would facilitate the recruitment of this subset of GABAergic interneurons. Thus, our results suggest that CS interneurons would represent a pool of GABAergic interneurons that are turned ON following episodes of high network activity. The lasting increase in excitability in some interneurons would prevent runaway excitation by promoting the recruitment of GABAergic interneurons.

METHODS

Slice Preparation and Electrophysiology. Hippocampal slices (350-400 μm) were prepared from postnatal day 15-20 Wistar rats. All experiments were carried out according to the European and institutional guidelines for the care and use of laboratory animals (Council Directive 86/609/EEC and French National Research Council). Rats were deeply anesthetized with chloral hydrate (intraperitoneal, 200 mg/kg) and killed by decapitation. Slices were cut in a sodium-free solution (in mM: sucrose, 280; NaHCO_3 , 26; D-glucose, 10; KCl, 1.3; CaCl_2 , 1; MgCl_2 , 10). The slices were maintained for one hour at room temperature in oxygenated (95% O_2 /5% CO_2) artificial cerebrospinal fluid (ACSF; in mM: NaCl, 125; KCl, 2.5; NaH_2PO_4 , 0.8; NaHCO_3 , 26; CaCl_2 , 3; MgCl_2 , 2; D-Glucose, 10). Each slice was transferred to a temperature-controlled (29°C) recording chamber with oxygenated ACSF. Neurons were visualized in DIC infrared (IR)-videomicroscopy for patch-clamp experiments. In all experiments, the GABA_A receptor antagonist picrotoxin (PiTX, 100 μM) was applied. The area CA1 was surgically isolated to prevent epileptiform bursting. Whole-cell patch-clamp recordings were obtained from CA1 interneurons. The electrodes were filled with an internal solution containing (in mM): K-gluconate, 120; KCl, 20; HEPES, 10; EGTA, 0.5; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2; Na_2ATP , 2. Glass stimulating electrodes filled with extracellular saline were placed in the *stratum radiatum*. In control and test conditions, EPSPs were evoked at 0.1 Hz. The stimulus intensity (80-180 μs , 40-100 μA) was adjusted to evoke subthreshold EPSPs. LTP-IE was induced by high frequency stimulation (HFS) consisting in 10 bursts delivered at 0.3 Hz each consisting of 10 stimulation at 100 Hz.

Drugs were bath applied. PiTX, kynurenate were purchased from Sigma. The identity of the recorded neurons was confirmed by their firing pattern in response to depolarizing pulses of current and by their morphology revealed by biocytin labeling. Briefly, biocytin (0.4% Sigma) was added to the pipette solution and was revealed with avidin-biotin complex coupled to fluorescein, and examined using confocal microscopy.

Data Acquisition and Analysis. Electrophysiological recordings were obtained using an Axopatch 2B amplifier, Acquis1 software (Bio-Logic, Orsay, France) or pClamp version 8 and 9. Data were analyzed with IGOR version 5.03 (WaveMetrics, Lake Oswego, OR). Pooled data are presented as either mean \pm SE or box plots and statistical analysis was performed using the Mann-Whitney *U*-test or the paired *t*-test of Student.

The classification of the neurons based on their firing properties was performed while a sustained depolarizing current pulse (1 s) produced approximately 10 spikes. An adaptation index of firing was calculated between the 1st and the 5th interstimulus interval (ISI, Russier et al., 2003). Analysis of the CV of the 5th spike latency was performed on 10 consecutive trials

REFERENCES

- Andersen, P., Sundberg, S.H., Sveen, O., Swann, J.W. & Wigström, H. (1980). *J. Physiol. (Lond.)* **302**, 463-482.
- Bliss, T.V.P. & Lømo, T. (1973). *J. Physiol. (Lond.)* **232**, 331-356.
- Campanac, E. & Debanne D (2008) *J. Physiol. (Lond.)* **586**, 779-793.
- Daoudal, G., Hanada, Y. & Debanne, D. (2002). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 14512-14517.
- Daoudal, G. & Debanne, D. (2003) *Learn. & Mem.* **10**, 456-465.
- Fan, Y., Fricker D, Brager, D.H., Chen, X., Lu, H.C., Chitwood R.A. & Johnston, D. (2005) *Nat. Neurosci.* **8**, 1542-1551.
- Ferraguti, F., Cobden, P., Pollard, M., Cope, D., Shigemoto, R., Watanave, M. & Somogyi, P. (2004) *Hippocampus* **14**, 193-215.
- Frick A, Magee J & Johnston D (2004) *Nat. Neurosci.* **7**, 126-135.
- Freund T. & Katona I. (2007) *Neuron* **56**, 33-42.
- Glickfeld, L.L. & Scanziani, M. (2006) *Nat Neurosci* **9**, 807-815.
- Kullmann, D.M. & Lamsa, K.P. (2007) *Nat. Rev. Neurosci.* **8**, 687-699.
- Miles R & Poncer JC (1993) *J Physiol* **463**, 461-473.
- Ross, S.T. & Soltesz, I. (2001) *PNAS* **98**, 8874-8879.
- Russier M, Carlier E, Ankri N, Fronzaroli L & Debanne D (2003) *J Physiol* **549**, 21-36.
- Somogyi, P. & Klausberger, T. (2005) *J Physiol* **562**, 9-26.
- Sourdet, V., Russier, M., Daoudal, G., Ankri, N. & Debanne, D. (2003) *J Neurosci* **23**,
- Wang Z., Xu, N., Wu, C., Duan, S. & Poo, M.M. (2003) *Neuron* **37**, 463-472.
- Xu, J., Kang, N., Jiang, L., Nedergaard, M. & Kang, J. (2005) *J Neurosci* **25**, 1750-1760.

Acknowledgments: This work was supported by *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM, AVENIR), *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS), *Agence Nationale de la Recherche* (ANR Neuroscience Neurologie & Psychiatrie), *Fondation pour la Recherche Médicale* and *the Ministry of Research* (Doctoral grant to EC and ACI Jeunes Chercheurs).

FIGURE LEGENDS

Figure 1. RS and CS interneurons. Confocal images of CA1 interneurons labeled with biocytin. Example of morphology and firing pattern (red trace) of a RS interneuron (A) and a CS (B). Insets, IR pictures of each interneuron.

Figure 2. LTP-IE induced by HFS in CS but not RS interneurons. Intrinsic excitability before and after HFS (red arrow) in RS interneurons (A) and CS interneurons (B and C). Top, raster plot of spike

latencies evoked by a constant depolarizing step of current as a function of time. Middle, time course of the normalized AP numbers in a single experiment (upper graph) and pooled data (lower graph). Bottom, time course of the normalized resting membrane potential (RMP). Note that LTP-IE occurs only in CS interneurons (left B) and is not blocked by 2 mM kynurenatate (orange, C).

Figure 3. Pharmacological induction of LTP-IE in CS. DHPG (20 μ M, 2 min) had virtually no effect on IE in RS (A) but induces LTP-IE in CS (B). Similarly, CHPG (500 μ M, 2 min) induced LTP-IE in CS (D) but not in RS (C). Top, raster plot of spike latencies evoked by a constant depolarizing step of current as a function of time. Middle, time course of the normalized AP numbers in a single experiment (upper graph) and pooled data (lower graph). Bottom, time course of the normalized resting membrane potential (RMP).

Figure 4. Hypothetic scheme. Left, regular-spiking interneuron (RS), middle pyramidal cell (PC) and right, clustered-spiking interneuron (CS) that inhibits the soma of PC. STP-IE and LTP-IE are induced upon stimulation of Schaffer collaterals. LTP-IE is solely observed if the polysynaptic excitatory circuits are interrupted (experiment with kynurenatate).

Table 1.

	RS	CS
R_{in}	419 ± 43 MΩ	120 ± 9 MΩ,
	n = 17	n = 22
I_{th}	60 ± 5 pA	204 ± 13 pA
	n = 16	n = 22
Adaptation index	0.95 ± 0.03	1.79 ± 0.49
(1 st ISI/ 5 th ISI)	n = 16	n = 21
CV_{ISI}	0.06 ± 0.01	0.71 ± 0.12
(5 th ISI, 10 trials)	n = 16	n = 21

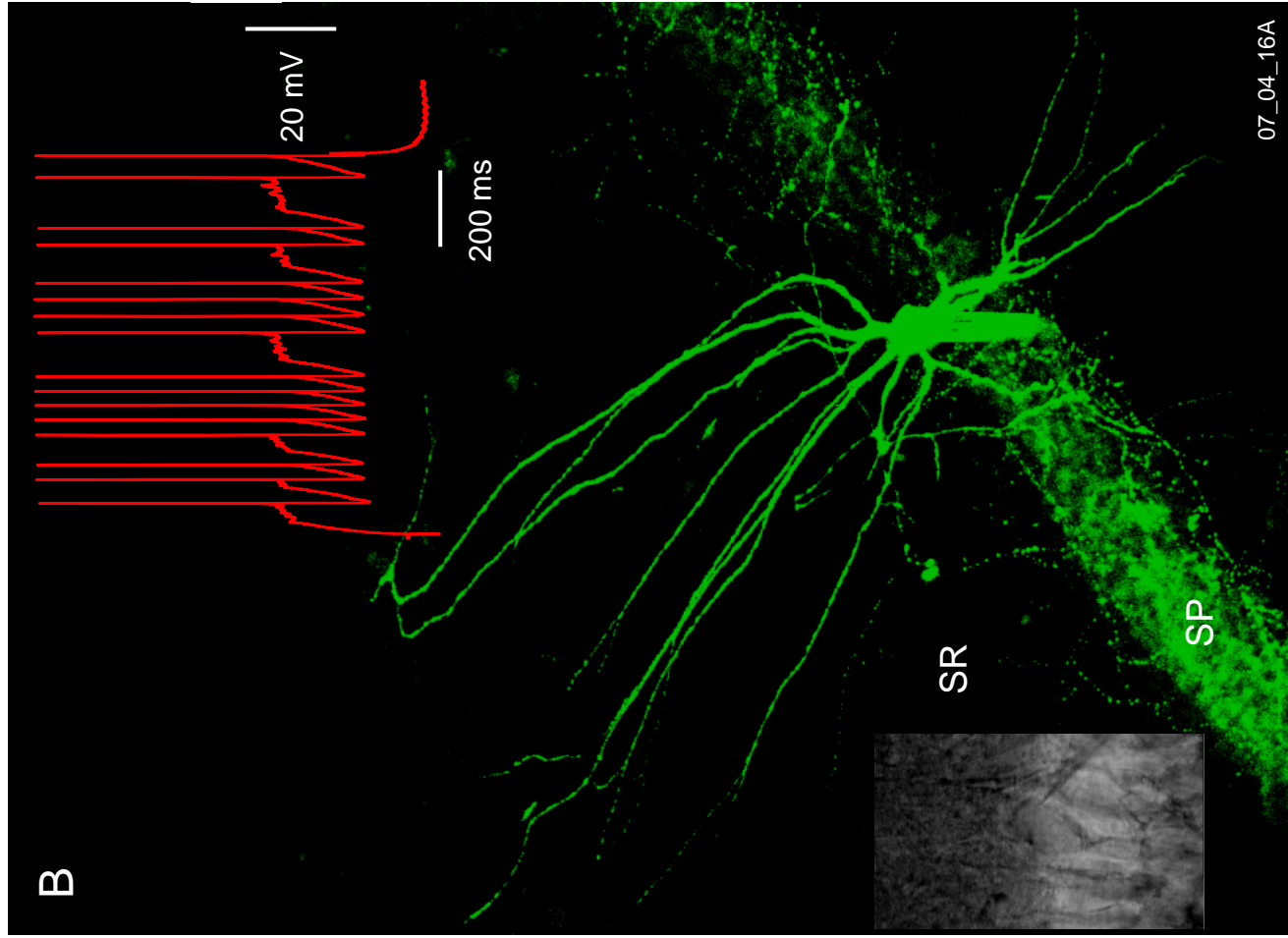
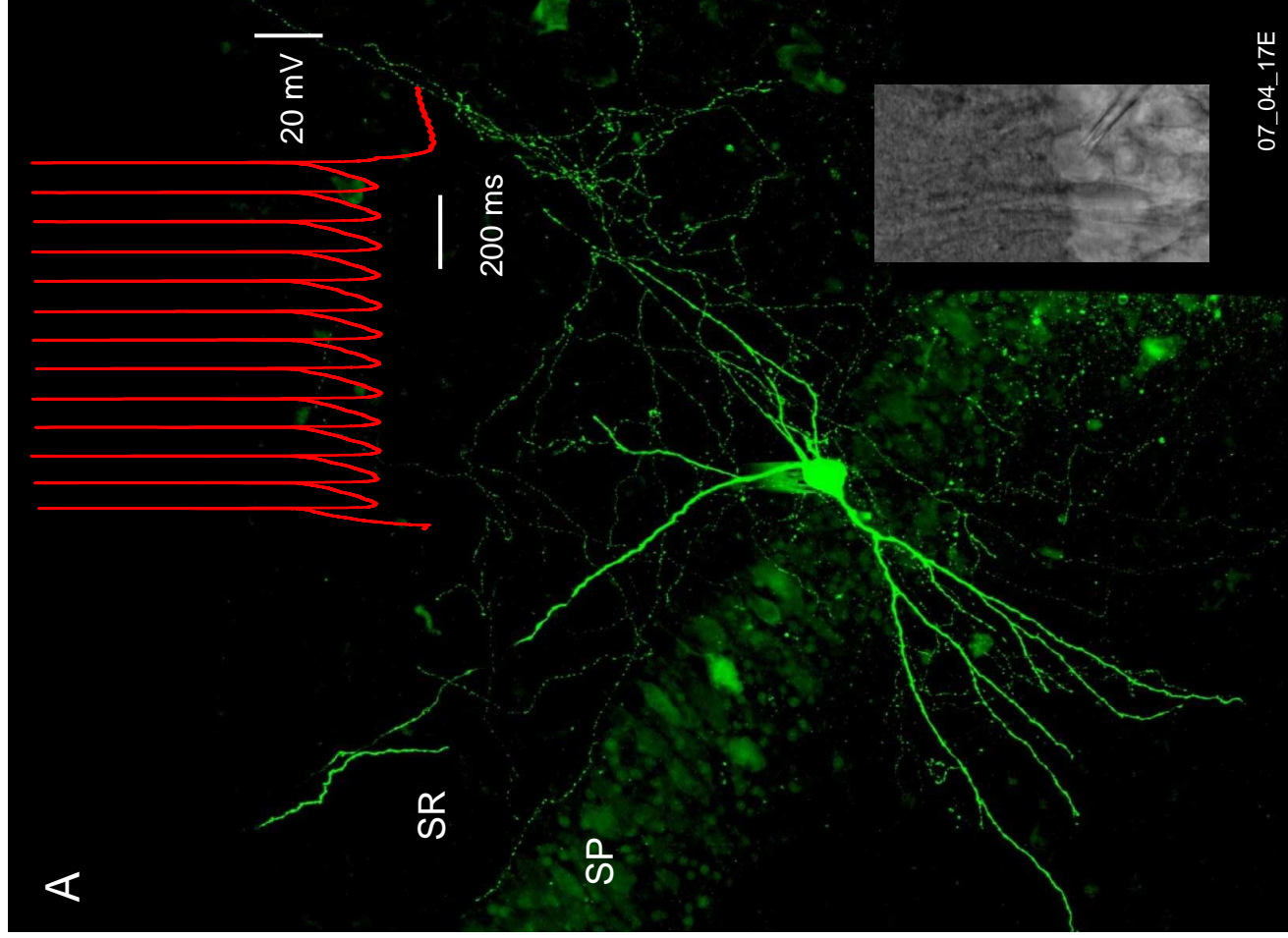


Figure 1

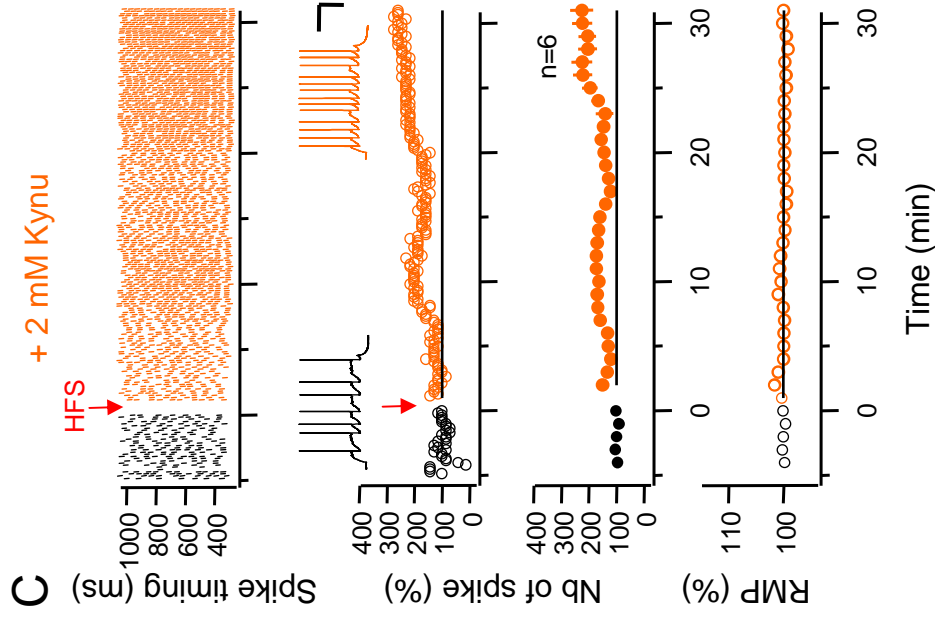
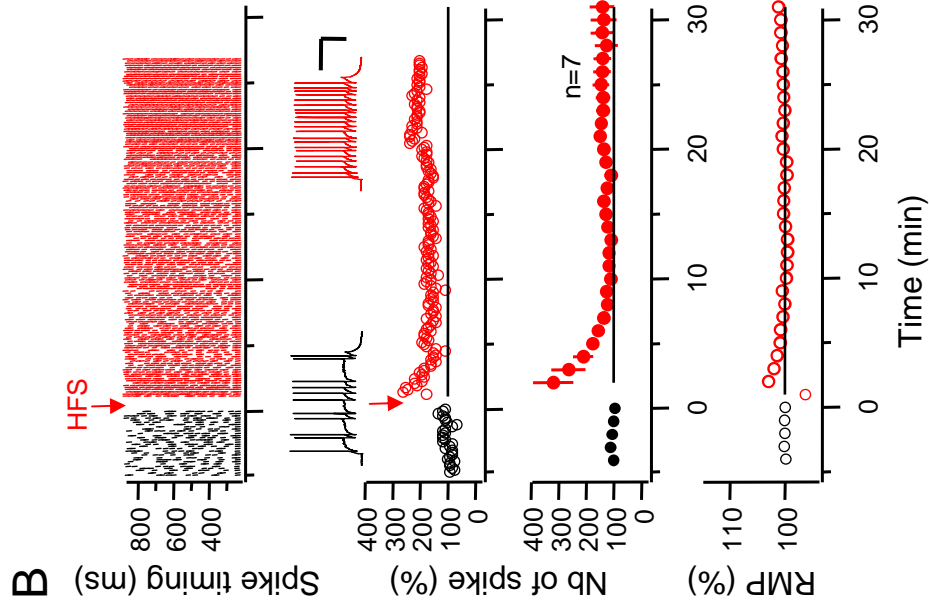
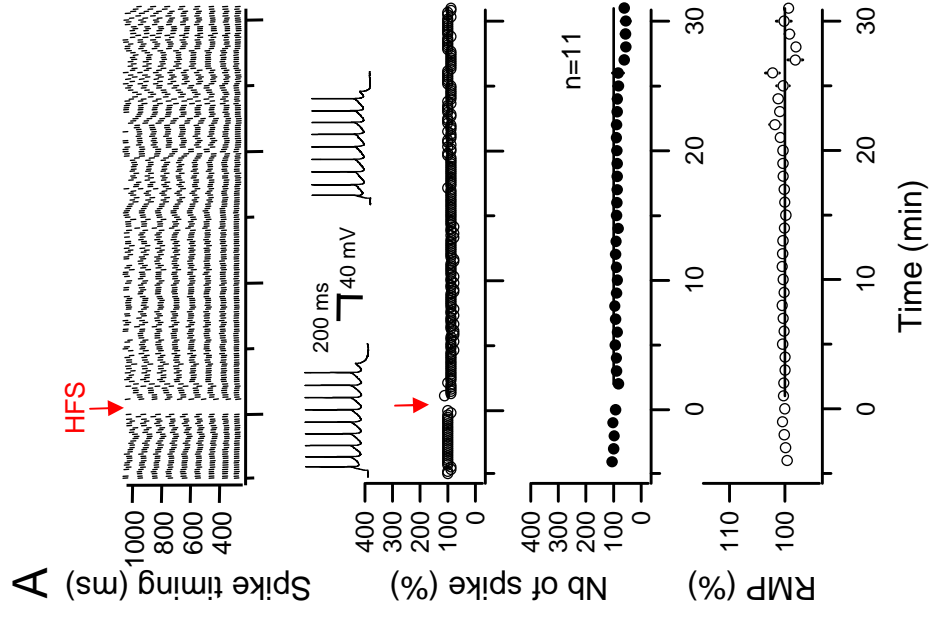


Figure 2

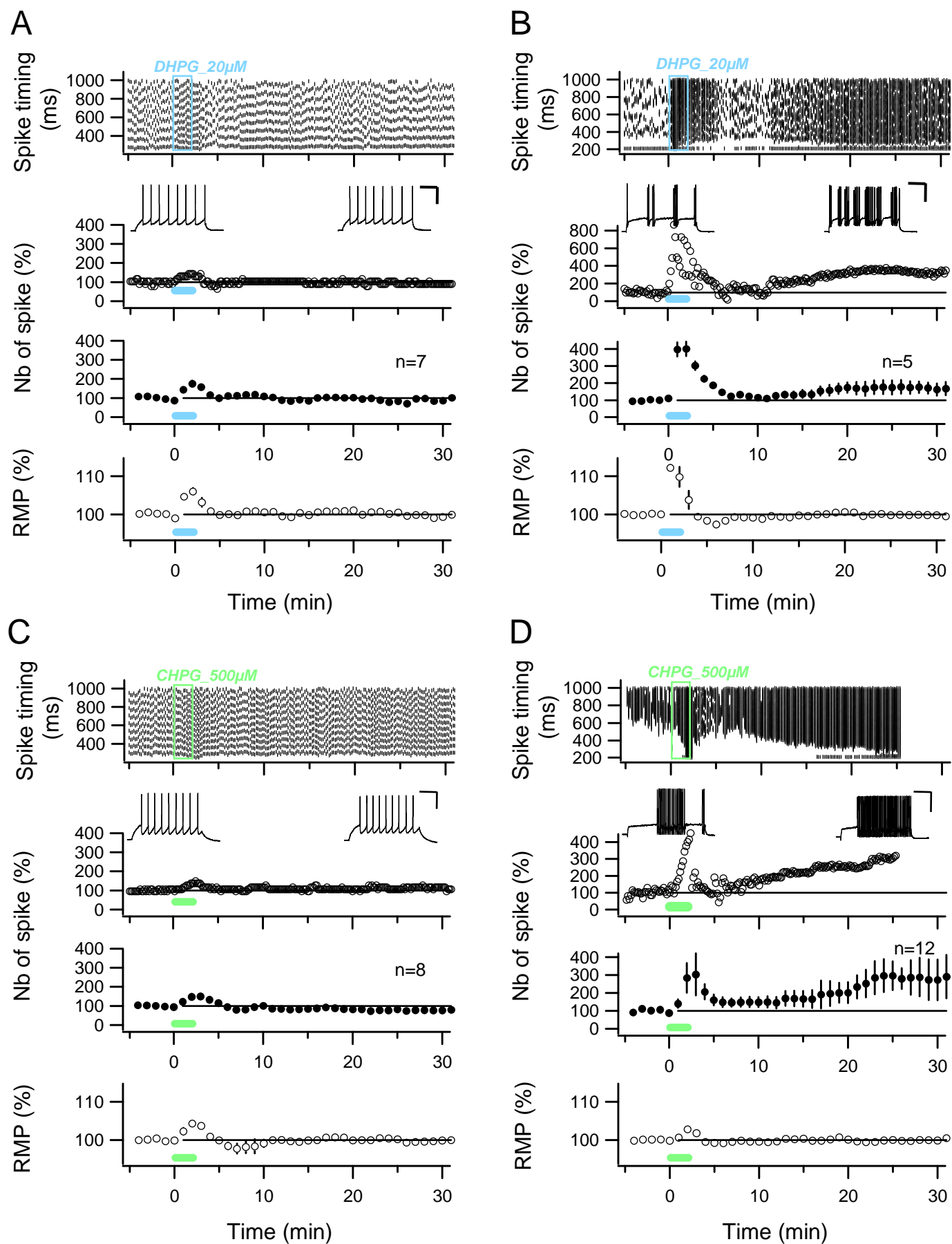


Figure 3

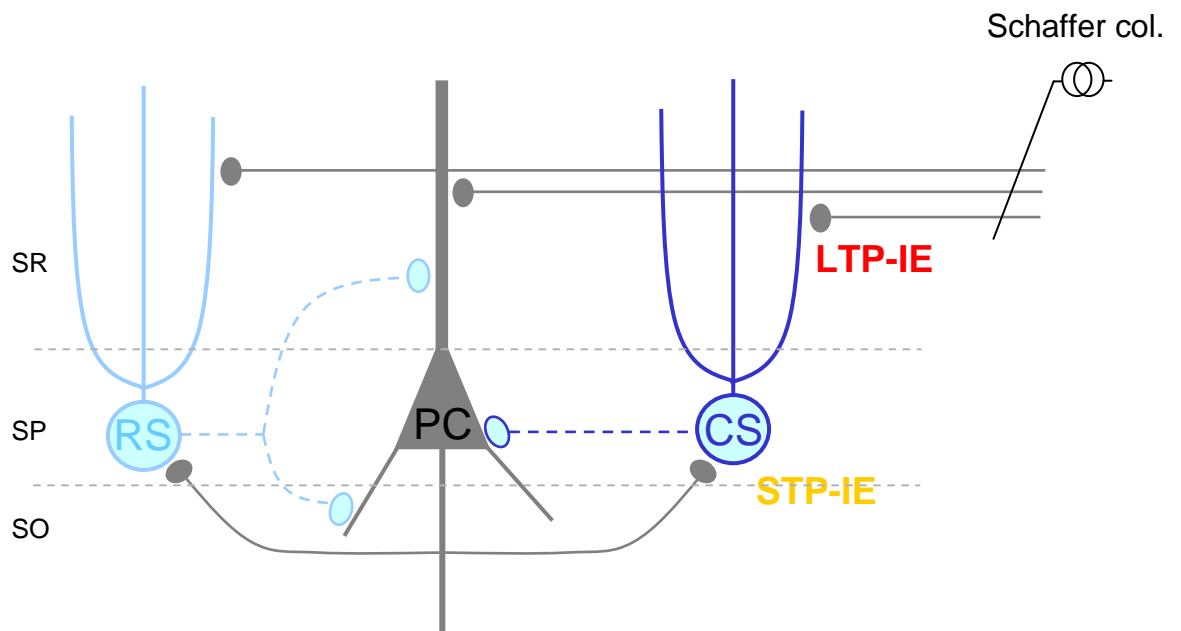


Figure 4

4. DISCUSSION

4.1. Plasticité E-S

4.1.1. STDP : règle de plasticité du couplage E-S

Il a été ultérieurement démontré, que les changements synaptiques et les changements de l'intégration synaptique dans les neurones pyramidaux de l'aire CA1, évoluent dans le même sens quand la plasticité synaptique est induite par des protocoles reposant sur la fréquence de stimulation présynaptique (Daoudal et al., 2002). Ainsi, une téτανisation à 100 Hz (HFS) entraîne une LTP accompagnée d'une potentialisation E-S et une téτανisation à 3 Hz (LFS) entraîne une LTD accompagnée d'une dépression E-S. Peut-on étendre cette synergie à la plasticité associative?

Une potentialisation E-S associative, concomitante à l'induction d'une LTP, a été précédemment décrite en utilisant des techniques d'enregistrements extracellulaires (Jester et al., 1995). Plus récemment *Wang et collaborateurs* ont démontré que la corrélation entre activité pré- et postsynaptique en plus de modifier la transmission synaptique altère l'intégration des signaux au niveau dendritique : gain de sommation spatiale après LTP associative et perte de sommation après LTD (Wang et al., 2003). Ces changements seraient la conséquence de modifications locales de conductances dépendantes du voltage qui déterminent les propriétés de sommation. Nos données concernant les modifications de l'intégration synaptique sont donc en parfait accord avec ce qui a été précédemment montré.

Nous apportons ici, en enregistrement unitaire, la confirmation de l'existence d'une potentialisation E-S associative et la première mise en évidence d'une dépression E-S associative, indépendantes de la transmission GABA_A. Il existe donc une synergie entre la plasticité synaptique et la plasticité E-S signifiant que les règles établies pour la plasticité synaptique s'appliquent à la plasticité E-S et ce, quel que soit le mode d'induction (téτανisation ou appariement). Ceci suggère la possibilité d'une voie d'induction commune. Il a déjà été établi que la LTP et LTD dans la région CA1 de l'hippocampe requièrent l'activation des récepteurs NMDA. D'autres travaux montrent que les récepteurs NMDA sont également nécessaires à la potentialisation et la dépression E-S homosynaptiques (Daoudal et al., 2002) ainsi qu'à la potentialisation E-S associative (Jester et al., 1995). Nos données confirment la nécessité de l'activation des récepteurs NMDA pour l'induction de la LTP associative et montrent qu'ils sont également indispensables à l'induction de la LTD associative ainsi qu'à celle de la plasticité de l'intégration qui les accompagne. Toutefois, même si la plasticité synaptique et la plasticité non synaptique partagent la même voie d'induction, elles possèdent des mécanismes d'expression différents, à savoir, une régulation des récepteurs synaptiques (AMPA/NMDA) pour la plasticité synaptique et des canaux dépendants du voltage pour la plasticité de l'excitabilité. En aval de l'élévation de la $[Ca^{2+}]_i$, différentes protéines kinases ou phosphatases (PKA, PKC, CaMKII) jouant un rôle crucial dans la plasticité synaptique sont également impliquées dans la plasticité de

l'excitabilité (Ganguly et al., 2000; Wang et al., 2003; Li et al., 2004; Fan et al., 2005; Brager and Johnston, 2007). A ce jour, la cascade de signalisation mise en jeu entre les récepteurs NMDA et les canaux n'est pas clairement identifiée. Existe-t-il une voie de signalisation commune entre les deux formes plasticités? Dans le cas contraire où se situe le point de divergence? Il est également possible que ces voies de signalisation puissent dépendre des canaux-cibles et de la régulation qui leur est associée. En effet, un changement des propriétés biophysiques, dû par exemple à une phosphorylation, n'impliquera pas forcément les mécanismes responsables d'une endocytose de canaux membranaires.

En conclusion, nos résultats montrent que la règle de STDP, établie précédemment pour la plasticité de la transmission synaptique, est également valable pour décrire la plasticité de l'intégration dans les neurones pyramidaux de CA1 de l'hippocampe.

4.1.2. Amplification/Atténuation des PPSE : substrat de l'expression de la plasticité du couplage E-S

Actuellement, deux types de mécanismes sont proposés pour rendre compte de la plasticité du couplage E-S. La plasticité E-S serait due, à un déséquilibre entre les entrées inhibitrices et excitatrices d'une part (Abraham et al., 1987; Chavez-Noriega et al., 1989; Lu et al., 2000; Staff and Spruston, 2003; Chevaleyre and Castillo, 2003; Marder and Buonomano, 2004), et à des changements d'excitabilité intrinsèque de la membrane postsynaptique d'autre part (Abraham et al., 1985; Taube and Schwartzkroin, 1988; Jester et al., 1995; Daoudal et al., 2002). Ces deux mécanismes peuvent se différencier car la première composante est sensible à l'application de picrotoxine (PiTX), bloqueur des récepteurs GABA_A alors que la seconde ne l'est pas. Notre étude s'est focalisée sur cette seconde composante puisque toutes les expériences ont été réalisées en présence de PiTX.

Dans le cas de la plasticité E-S résistante à la PiTX, les mécanismes cellulaires d'expression les plus probables passeraient par la régulation de conductances ioniques dépendantes du voltage intervenant dans les processus d'intégration (cf. §1.2.3.). Plus précisément, la plasticité E-S peut résulter d'une modification du seuil de déclenchement des PA et/ou d'une modification de la forme des PPSE. Les changements bidirectionnels du couplage E-S, reportés dans notre étude, ne sont pas dus à une modification du seuil de déclenchement du PA, contrairement à ce qui a été observé dans d'autres études (Armano et al., 2000; Xu et al., 2005), mais à une modification de l'amplification/atténuation des PPSE. Une modification de la forme du PPSE a été précédemment décrite après induction de la LTP (Hess and Gustafsson, 1990), mais nous décrivons ici pour la première fois des modifications bidirectionnelles. Ces modifications reflètent parfaitement celles du

couplage E-S, puisque pour une même pente du PPSE, une augmentation de l'amplitude des PPSE est observée après induction de la LTP et que, réciproquement, une diminution de l'amplitude est observée après induction de la LTD. L'hypothèse que ces changements de la relation Amplitude/Pente des PPSE passeraient par une régulation des conductances dépendantes du potentiel est confirmée par le fait que cette relation est affectée par le blocage spécifique de différentes conductances dépendantes du voltage : augmentation de la relation Ampl/Pente en présence de ZD7288/Cs⁺ (bloqueurs de I_h), ou de 4-AP (bloqueur de I_A) et diminution en présence de riluzole (bloqueur de I_{NaP}). L'augmentation d'amplification des PPSE après la LTP proviendrait d'une régulation positive des conductances qui amplifient les PPSE et/ou d'une régulation négative des conductances qui les atténuent. Inversement, une régulation opposée serait à l'origine de l'atténuation des PPSE après la LTD. Différentes données de la littérature supportent cette idée : i) Le gain de sommation spatiale des PPSE obtenu après LTP associative est diminué en présence d'inhibiteur pharmacologique du courant I_h (Wang et al., 2003) ii) La potentialisation synaptique est associée à une modulation locale du courant I_A au niveau même du site d'induction de la LTP (Frick et al., 2004) iii) la potentialisation E-S induite par HFS est due à une diminution du courant I_h (voir §4.2.2.).

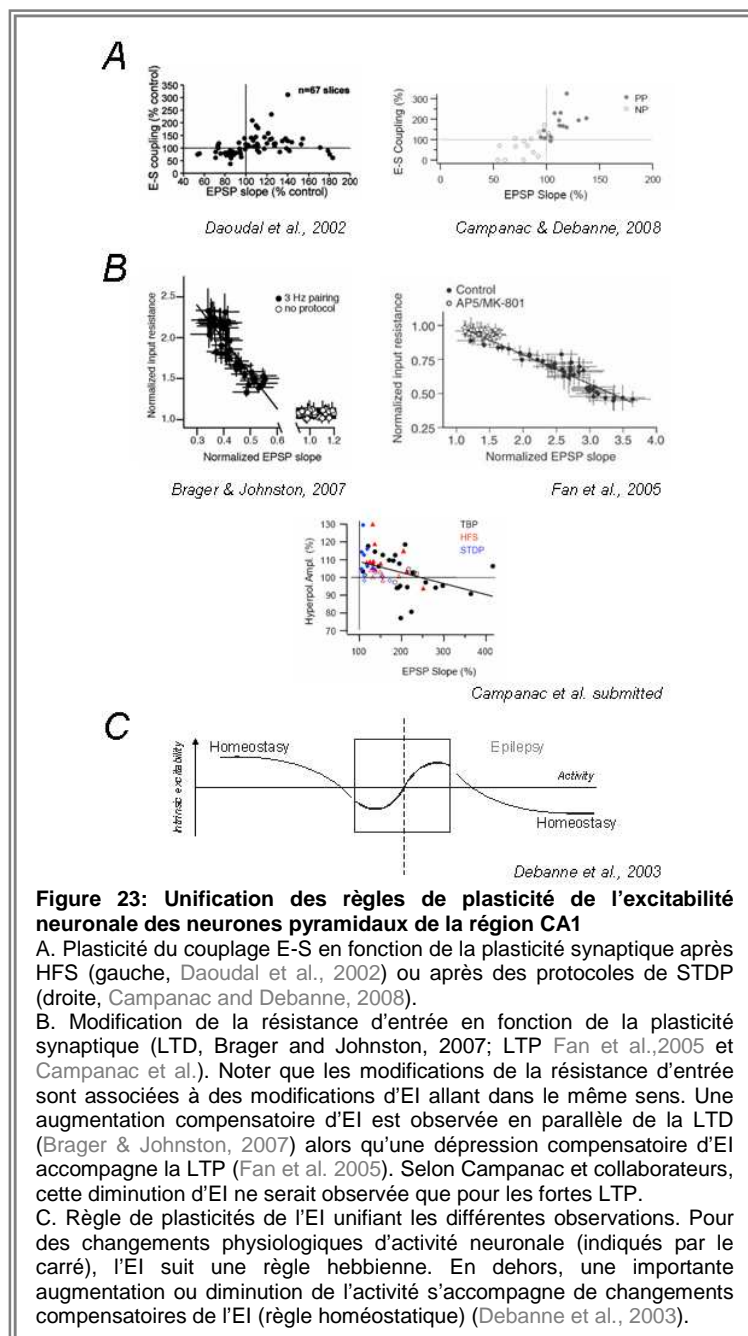
4.1.3. Spécificité spatiale des changements de la relation Ampl/Pente

Nos résultats indiquent également que ces modifications d'intégration ne sont pas globales mais spécifiques des voies synaptiques mises en jeu, indiquant qu'elles sont restreintes à une portion de dendrite. En effet, la relation Ampl/Pente des PPSE est différemment affectée sur la voie conditionnée par rapport à la voie contrôle après induction de la LTP ou de la LTD, ce qui confirme des travaux antérieurs démontrant une restriction spatiale dans la plasticité du couplage E-S (Daoudal et al., 2002), de la sommation des PPSE (Wang et al., 2003) et de l'excitabilité dendritique (Frick et al., 2004) induites en parallèle de la plasticité synaptique dans les neurones pyramidaux de CA1. Bien que des expériences supplémentaires soient nécessaire, on pourrait penser que ces changements ne sont sans doute pas restreints à une épine dendritique mais plutôt à un groupe d'épines portées par un même tronc dendritique.

4.2. Modification du courant I_h par l'activité

4.2.1. Courant I_h et LTP : augmentation ou diminution ?

Actuellement, il existe dans la littérature un désaccord sur la nature du sens de la régulation du courant I_h après induction de la LTP. I_h est augmenté après induction d'une LTP par TBP (Fan et al., 2005) alors qu'il serait diminué après induction d'une LTP par STDP (Wang et al., 2003). En fait, cette contradiction se résout si on considère l'amplitude de la LTP considérée. Nos résultats, obtenus en utilisant 3 types de protocoles (STDP, HFS et TBP) induisant des LTP de magnitudes différentes, indiquent qu'en fonction de la magnitude de la LTP I_h peut être régulé bidirectionnellement.



En effet, nous montrons que le TBP, qui induit une potentialisation synaptique importante, est associé à une élévation du courant I_h comme précédemment décrit (Fan et al., 2005) (Figure 23B). Cette augmentation de I_h est à l'origine d'une diminution de l'excitabilité neuronale (Fan et al., 2005) et en ce sens peut être considérée comme un processus homéostatique. A l'inverse, par des protocoles de STDP ou de HFS, l'induction d'une LTP plus modeste est associée à une réduction du courant I_h . Dans ce cas la diminution de I_h permet une augmentation de l'intégration (potentialisation E-S) et représente un processus hebbien (Figure 23A et B). L'intérêt de notre étude est de mettre en lumière un continuum entre les 2 formes de plasticité. Le courant I_h dans les cellules pyramidales de CA1 peut donc, dans un même contexte, celui de la LTP, faire l'objet de deux formes de plasticité hebbienne et homéostatique, afin de maintenir un niveau d'excitabilité physiologique.

Des contradictions de même nature apparaissent pour les changements d'excitabilité associés à la LTD. En effet, une dépression E-S accompagne la LTD induite par stimulation à basse fréquence (1-3Hz, Daoudal et al., 2002) ou par corrélation négative (Campanac and Debanne, 2008; Figure 23A), alors qu'une augmentation de résistance d'entrée et une augmentation d'excitabilité sont observées quand la LTD est induite par une procédure de corrélation négative à 3 Hz (Brager and Johnston, 2007; Figure 23B). Là encore, la clé du problème semble résider dans l'amplitude des changements induits. En effet, la dépression induite par appariement à 3 Hz est de 60% (Brager and Johnston, 2007) contre 15-20% dans les autres études (Daoudal et al., 2002; Campanac and Debanne, 2008). Ainsi, une règle unifiant les différentes données peut être mise en avant où les changements d'excitabilité intègrent une loi incorporant les changements hebbiens et homéostatiques (Figure 23C ; voir aussi Debanne et al., 2003).

4.2.2. Courant I_h et potentialisation E-S

Nos données montrent qu'une téτανisation HFS, en plus d'une LTP, induit une potentialisation d'intégration résultant d'une réduction du courant I_h . En effet, après la HFS, l'amplitude d'hyperpolarisation et du sag induits par un créneau de courant négatif, signature de l'activation du courant I_h , sont significativement réduites. Une modification de la forme du PPSE est également observée. Le blocage pharmacologique du courant par du ZD7288/ Cs^+ abolit l'induction de la potentialisation E-S sans affecter celle de la LTP. La comparaison de la courbe d'activation du courant I_h avant et après induction de la LTP a permis de montrer que la réduction du courant est due à une diminution de sa conductance maximale (~ 15%). Ce changement dans la conductance h requiert l'activation des récepteurs NMDA comme dans le cas de la transmission synaptique.

L'injection d'une anti-conductance h locale au niveau dendritique est capable de reproduire tous les effets observés après la HFS, à savoir, la réduction de l'amplitude d'hyperpolarisation, du sag et surtout l'augmentation d'intégration (potentialisation E-S et augmentation de l'intégrale du PPSE).

4.2.3. Restriction spatiale dans le changement du courant I_h

Nos résultats suggèrent que cette réduction du courant I_h est locale, autrement dit restreinte à la portion de dendrites recevant les synapses activées. Premièrement, le changement de conductance mesuré au soma est de faible amplitude. Deuxièmement, contrairement à l'hyperpolarisation du potentiel de membrane observée lors d'un blocage global de I_h , aucune variation significative n'est mesurée après la HFS. Nous avons également vu que lors des doubles enregistrements

soma/dendrite, toutes les mesures effectuées pour tester I_h après HFS (amplitude de l'hyperpolarisation, sag et RMP) montrent des changements plus importants au niveau dendritique qu'au niveau somatique. Enfin, l'injection d'une anti-conductance h locale, au niveau dendritique, affecte de manière différentielle le potentiel de membrane dendritique par rapport au somatique. L'augmentation du couplage E-S, associée à la LTP, est également spécifique des voies synaptiques mises en jeu lors de la HFS (Daoudal et al., 2002). Cette observation a également été faite sur les changements de sommation spatiale (Wang et al., 2003) ainsi que sur la relation Ampl/Pente (Campanac and Debanne, 2008), associées aux plasticités synaptiques induites par des protocoles de STDP. L'injection de l'anti-conductance h dendritique mime cet effet de restriction spatiale. En effet, le couplage E-S ainsi que la forme du PPSE sont affectés de manière différentielle en fonction de la localisation de la voie synaptique par rapport au site d'injection de l'anti-conductance, l'effet étant plus important au niveau du site d'injection.

Il est aisé de comprendre qu'une réduction du courant I_h permet une meilleure amplification ainsi qu'une meilleure sommation temporelle des PPSE, rapprochant le potentiel de membrane du seuil de déclenchement du PA. Cependant, le courant I_h contrôle également le potentiel membranaire et son blocage entraîne une hyperpolarisation du potentiel de membrane, éloignant ce dernier du seuil de déclenchement du PA et affectant les propriétés d'activation/inactivation des autres conductances dendritiques qui elles aussi interviennent dans l'intégration des PPSE. En effet, une légère hyperpolarisation dendritique, comme celle observée lors de l'injection dendritique de l'anti-conductance h , va, par exemple, changer la récupération de l'inactivation du courant I_A , un courant majeur dans les dendrites des pyramides de CA1, et diminuer l'amplification par le courant I_{NaP} . La réduction du courant I_h a donc deux effets antagonistes. Une hypothèse séduisante serait que l'effet d'amplification l'emporterait sur celui de l'hyperpolarisation au niveau des synapses activées lors du protocole de conditionnement induisant la potentialisation E-S homosynaptique et qu'au contraire, l'effet d'hyperpolarisation l'emporterait au niveau des synapses non stimulées expliquant ainsi la présence d'une dépression E-S hétérosynaptique (Daoudal et al., 2002).

4.3. LTP-IE des interneurones

Les interneurones inhibiteurs de l'hippocampe montrent une très grande diversité et actuellement plus d'une quinzaine d'interneurones différents ont été identifiés selon des critères morphologiques et cellulaires (pour revue Somogyi and Klausberger, 2005; Figure 24). Ces neurones permettent de limiter l'excitation dans les réseaux en inhibant les cellules pyramidales. Une question essentielle en neurosciences est de comprendre comment la dynamique du pouvoir inhibiteur des interneurones GABAergiques est régulée par l'activité des circuits synaptiques. En effet, l'absence de plasticité

conjointe des augmentations de l'excitation pourrait entraîner un déséquilibre dans le réseau hippocampique et éventuellement conduire à des crises d'activité épileptiforme. Ainsi, des potentialisations de la transmission synaptique excitatrice et/ou de l'excitabilité intrinsèque des neurones excitateurs devraient être accompagnées de plasticités synaptiques et intrinsèques des interneurones. Puisque l'excitabilité intrinsèque (EI) des neurones pyramidaux augmente à la suite de certains régimes d'activité synaptique, il convient de déterminer si l'EI des interneurones GABAergique augmente sur le long terme en parallèle pour préserver l'équilibre des réseaux.

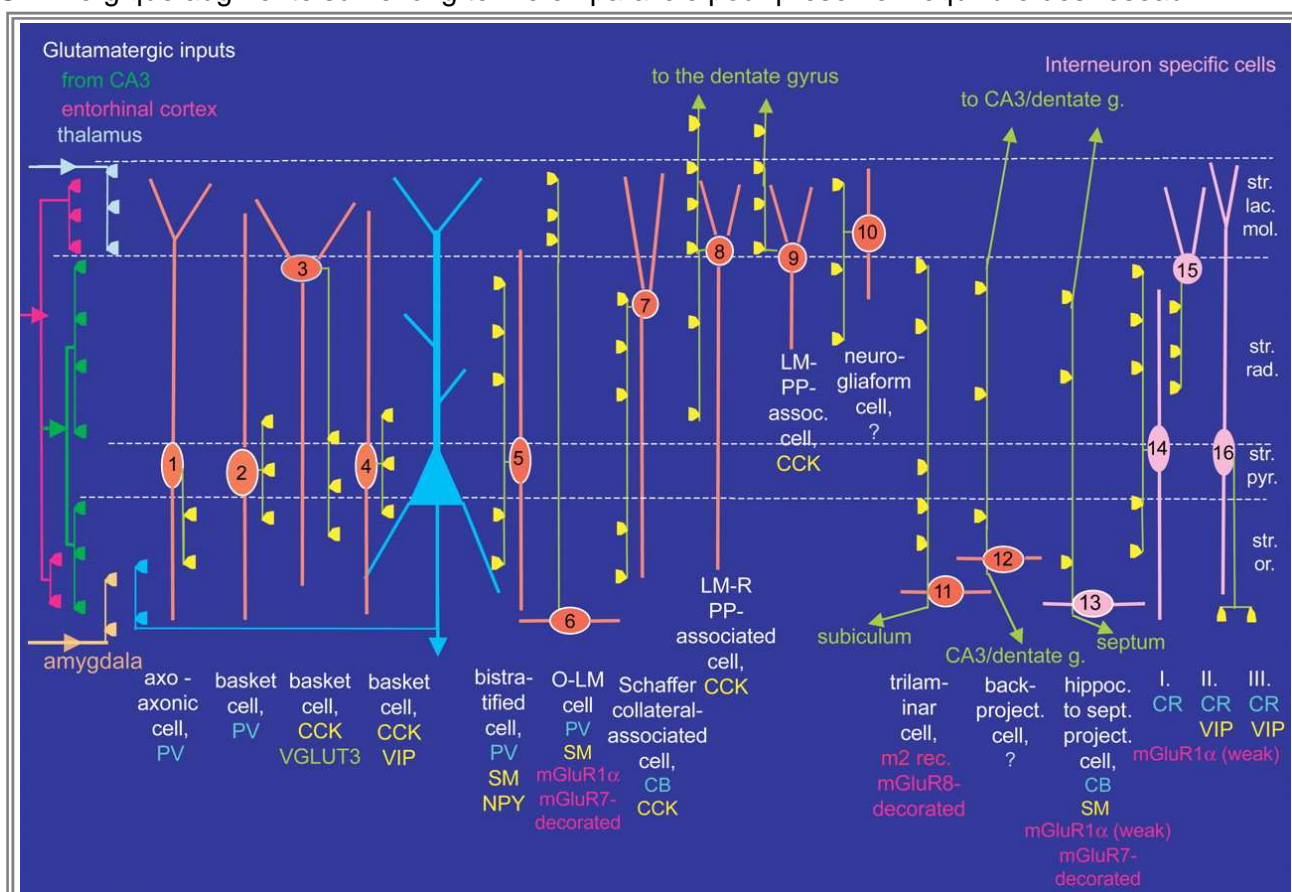


Figure 24: Différents types d'interneurones GABAergiques de la région CA1 de l'hippocampe

En orange sont représentés les somas et dendrites des interneurones innervant les cellules pyramidales et en rose ceux connectant uniquement ou principalement d'autres interneurones. Les axones sont représentés en vert et les zones de projections axonales par les symboles jaunes. CB, calbindine ; CR, Calretinine ; LM-PP, Lacunosum-moleculare-perforant path ; LM-R-PP, lacunosum-moleculare-radiatum-perforant-path ; m2, récepteur muscarinique de type 2 ; NPY, neuropeptide tyrosine ; PV, parvalbumine ; SM, somatostatine ; VGLUT3, transporteur vésiculaire du glutamate de type 3 (Somogyi and Klausberger, 2005).

Jusqu'à présent, seules des plasticités synaptiques à long terme ont été décrites dans les interneurones (pour revue Kullmann and Lamsa, 2007) et peu de données relatent des plasticités non-synaptiques. A ce jour, seule une augmentation transitoire de l'EI (pendant 2-3 minutes) a été observée dans les interneurones GABAergiques de la région CA3, à la suite d'une stimulation synaptique à haute fréquence (Miles and Poncer, 1993). Dans une autre étude isolée, il a été montré que le potentiel de membrane des cellules en panier du gyrus denté est dépolarisé, sur le long terme, à la suite d'une tétanisation à haute fréquence (Ross and Soltesz, 2001). Cette plasticité requiert l'activation des récepteurs NMDA et implique un échangeur sodium/potassium. Aujourd'hui on ignore

si les interneurones expriment des plasticités à long terme de l'excitabilité neuronale impliquant la régulation de conductances dépendantes du potentiel.

Nous montrons ici, pour la première fois, que les interneurones à décharge irrégulière (*clustered spiking* ou CS) dont le corps cellulaire est localisé dans le *stratum pyramidale* de CA1 expriment une potentialisation à long terme de l'excitabilité intrinsèque (LTP-IE) induite par tétanisation à 100 Hz des collatérales de Schaffer. Cette plasticité n'est pas bloquée par le kynurenate et est mimée par le DHPG et le CHPG, indiquant qu'elle requiert l'activation des récepteurs métabotropiques du glutamate de type I mais pas les récepteurs NMDA ou AMPA. Cependant, en présence de kynurenate la forte augmentation transitoire d'excitabilité survenant à la fin de la tétanisation est abolie, suggérant ainsi un rôle probable de la synapse formée par les pyramidales CA1 et l'interneurone dans ce phénomène transitoire. En revanche, un second type d'interneurones GABAergiques, à décharge régulière (*regular spiking* ou RS), est insensible à la stimulation à haute fréquence, au DHPG et au CHPG. Ainsi, la LTP-IE est sélective de certains interneurones. Il est intéressant de noter que certaines études antérieures ont montré également une grande hétérogénéité de la sensibilité des interneurones de l'aire CA1 aux agonistes des mGluR (Parra et al., 1998; van Hooft et al., 2000).

Qu'elle en est la signification fonctionnelle ? De manière intéressante, les neurones RS n'exprimant pas de LTP-IE ont une résistance d'entrée importante et un seuil d'activation bas alors que les CS qui expriment la LTP-IE présentent une résistance d'entrée basse et un seuil d'activation plus élevé. Ainsi, les RS pourraient être préférentiellement actifs en régime de base alors que les neurones CS pourraient constituer un contingent d'interneurones de réserve qui contrebalanceraient les excès d'excitation synaptiques ou E-S induits à la suite d'épisode d'activité synaptique intense. Ces travaux étendent donc, non seulement le concept de plasticité intrinsèque à une autre classe de neurones, mais aussi suggèrent que la plasticité intrinsèque pourrait contribuer au maintien d'une homéostasie des circuits hippocampiques.

4.4. Perspectives

Il est important de comprendre le(s) mécanisme(s) impliqué(s) dans la transition entre plasticité hebbienne et plasticité homéostatique du courant I_h . Un facteur très probable mis en jeu serait le niveau de dépolarisation et par conséquent le niveau de calcium atteint durant le protocole d'induction de la LTP. En effet, le nombre de PA est trois fois plus important durant le TBP (150 PA) que durant la HFS (46 PA).

Nous avons montré qu'il existe une corrélation entre le niveau de LTP atteint et le changement de I_h , à savoir une réduction pour de faibles LTP (< 150%) et une augmentation pour des LTP importantes

(> 250%). Or ces données sont obtenues sur des neurones différents. En sachant qu'un protocole de HFS induit en moyenne une LTP de 154% (donc non saturante), il serait particulièrement intéressant de déterminer les effets de plusieurs HFS consécutives sur le courant I_h . Cette expérience présenterait l'avantage de montrer directement qu'un même neurone exprime successivement les plasticités hebbienne et homéostatique. Cependant, de tels enregistrements nécessiteraient l'utilisation de la technique de patch perforé.

Une question importante est de savoir quels sont les mécanismes impliqués dans la régulation de I_h . Classiquement I_h est augmenté par l'AMPc en déplaçant sa courbe d'activation (Luthi and McCormick, 1999). Nous pouvons écarter cette hypothèse en raison de l'incompatibilité avec les phénomènes observés après LTP (augmentation de l'AMPc et diminution du courant I_h , aucun changement dans le potentiel de demi-activation $V_{1/2}$). D'autres mécanismes explicatifs doivent donc être envisagés. Plusieurs kinases peuvent être impliquées dans la régulation de I_h . Par exemple, dans la régulation homéostatique du courant I_h à la suite de LTP et LTD de grandes amplitudes, il a été montré que l'augmentation de I_h associée à la LTP nécessite l'activation de la CaMKII (Fan et al., 2005), alors que sa diminution à la suite d'une LTD implique la PKC (Brager and Johnston, 2007).

Un autre mécanisme possible ferait intervenir le BDNF, une neurotrophine jouant un rôle crucial dans le maintien de la LTP (pour revue Lu, 2003), qui a été montré comme diminuant le courant I_h dans les neurones respiratoires (impliqués dans la genèse du rythme respiratoire) du tronc cérébral. Toutefois ce mécanisme, à l'encontre de nos résultats, n'est que peu probable car cette réduction de I_h passe par un déplacement de sa courbe d'activation (Thoby-Brisson et al., 2003).

La diminution persistante de la conductance maximale du courant I_h observée après induction de la LTP résulte certainement d'une diminution de l'expression membranaire des canaux. Un candidat possible pour cette régulation serait la protéine Trip8b (Santoro et al., 2004). En effet, dans les dendrites des neurones pyramidaux de CA1, les protéines Trip8b et HCN1 co-localisent parfaitement et présentent le même gradient croissant des dendrites proximales vers les dendrites distales. Il serait donc intéressant de déterminer de quelle manière l'activité pourrait moduler Trip8b. Une seconde protéine a été montrée comme régulant l'expression de HCN1, la filamine A. Les autres interactions protéiques décrites affectent les propriétés biophysiques du courant I_h (cinétiques, potentiel de demi activation) et donc sont peu compatibles avec la diminution de conductance maximale observée.

Une controverse est toujours présente en ce qui concerne les changements d'excitabilité associés à la LTD puisque d'un côté des diminutions du couplage E-S (Daoudal et al., 2002; Campanac and Debanne, 2008) ou de la sommation des PPSE (Wang et al. 2003) sont observés après induction de la LTD, alors que dans une autre étude (Brager and Johnston, 2007), une augmentation de la résistance d'entrée et de l'excitabilité ont été observées. Bien qu'un schéma unificateur semble

émerger, il paraît nécessaire d'établir avec précision le mode de transition entre les deux types de changements opposés et d'en comprendre les mécanismes.

Il serait également intéressant de tester le rôle du courant I_h dans l'expression de la dépression E-S et, notamment, voir s'il existe une régulation bidirectionnelle hebbienne de ce courant. Des données préliminaires, obtenues au sein du laboratoire, montrent qu'à la suite d'une saturation de la potentialisation E-S induite par plusieurs tétanisations haute fréquence successives, suivie d'une désaturation des synapses par tétanisation basse fréquence, une nouvelle tétanisation haute fréquence est capable de réinduire une potentialisation E-S. Ce résultat suggère que les mêmes mécanismes seraient responsables de l'expression de la potentialisation et de la dépression E-S.

Enfin, concernant la LTP-IE des interneurones CS, une identification plus précise des interneurones est à réaliser : reconstruction morphologique, marquage immuno-histochimique (Parvalbumine, CCK, VIP,...). Nous avons montré que l'application de CHPG ou DHPG est capable d'induire la LTP-IE impliquant donc les mGluR de type I dans l'induction de cette plasticité. Il est donc nécessaire de confirmer ce résultat par des expériences de HFS en présence de bloqueurs spécifiques. Il sera également important d'identifier les mécanismes d'expression mis en jeu dans la LTP-IE et donc de déterminer quelles sont les conductances régulées ainsi que les mécanismes sous-jacents impliqués ; et en particulier, d'éventuels changements du seuil des PA ou de l'AHP devront être étudiés.

5. BIBLIOGRAPHIE

A

- Abraham WC, Bliss TV, Goddard GV (1985) Heterosynaptic changes accompany long-term but not short-term potentiation of the perforant path in the anaesthetized rat. *J Physiol* 363:335-349.
- Abraham WC, Gustafsson B, Wigstrom H (1987) Long-term potentiation involves enhanced synaptic excitation relative to synaptic inhibition in guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 394:367-380.
- Abraham WC, Logan B, Greenwood JM, Dragunow M (2002) Induction and experience-dependent consolidation of stable long-term potentiation lasting months in the hippocampus. *J Neurosci* 22:9626-9634.
- Abraham WC, Williams JM (2003) Properties and mechanisms of LTP maintenance. *Neuroscientist* 9:463-474.
- Aizenman CD, Linden DJ (2000) Rapid, synaptically driven increases in the intrinsic excitability of cerebellar deep nuclear neurons. *Nat Neurosci* 3:109-111.
- Alkon DL (1984) Calcium-mediated reduction of ionic currents: a biophysical memory trace. *Science* 226:1037-1045.
- Alkon DL, Lederhendler I, Shoukimas JJ (1982) Primary changes of membrane currents during retention of associative learning. *Science* 215:693-695.
- Alvarez VA, Sabatini BL (2007) Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines. *Annu Rev Neurosci* 30:79-97.
- Alzheimer C, Schwindt PC, Crill WE (1993) Modal gating of Na⁺ channels as a mechanism of persistent Na⁺ current in pyramidal neurons from rat and cat sensorimotor cortex. *J Neurosci* 13:660-673.
- Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31:571-591.
- Andersen P, Bliss TV, Lomo T, Olsen LI, Skrede KK (1969) Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Acta Physiol Scand* 76:4A-5A.
- Andersen P, Sundberg SH, Sveen O, Swann JW, Wigstrom H (1980) Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *J Physiol* 302:463-482.
- Anderson P, Storm J, Wheal HV (1987) Thresholds of action potentials evoked by synapses on the dendrites of pyramidal cells in the rat hippocampus in vitro. *J Physiol* 383:509-526.
- Andrasfalvy BK, Magee JC (2001) Distance-dependent increase in AMPA receptor number in the dendrites of adult hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 21:9151-9159.
- Andrasfalvy BK, Smith MA, Borchardt T, Sprengel R, Magee JC (2003) Impaired regulation of synaptic strength in hippocampal neurons from GluR1-deficient mice. *J Physiol* 552:35-45.
- Andreasen M, Lambert JD (1995) The excitability of CA1 pyramidal cell dendrites is modulated by a local Ca(2+)-dependent K(+)-conductance. *Brain Res* 698:193-203.
- Andreasen M, Lambert JD (1999) Somatic amplification of distally generated subthreshold EPSPs in rat hippocampal pyramidal neurones. *J Physiol* 519 Pt 1:85-100.
- Andreasen M, Lambert JD (1998) Factors determining the efficacy of distal excitatory synapses in rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *J Physiol* 507 (Pt 2):441-462.
- Anwyl R (1999) Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res Brain Res Rev* 29:83-120.
- Aponte Y, Lien CC, Reisinger E, Jonas P (2006) Hyperpolarization-activated cation channels in fast-spiking interneurons of rat hippocampus. *J Physiol* 574:229-243.
- Aptowicz CO, Kunkler PE, Kraig RP (2004) Homeostatic plasticity in hippocampal slice cultures involves changes in voltage-gated Na⁺ channel expression. *Brain Res* 998:155-163.
- Armano S, Rossi P, Taglietti V, D'Angelo E (2000) Long-term potentiation of intrinsic excitability at the mossy fiber-granule cell synapse of rat cerebellum. *J Neurosci* 20:5208-5216.
- Astman N, Gutnick MJ, Fleidervish IA (2006) Persistent sodium current in layer 5 neocortical neurons is primarily generated in the proximal axon. *J Neurosci* 26:3465-3473.

Asztely F, Gustafsson B (1994) Dissociation between long-term potentiation and associated changes in field EPSP waveform in the hippocampal CA1 region: an in vitro study in guinea pig brain slices. *Hippocampus* 4:148-156.

Asouz R, Gray CM (2000) Dynamic spike threshold reveals a mechanism for synaptic coincidence detection in cortical neurons in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:8110-8115.

B

Bal T, McCormick DA (1996) What stops synchronized thalamocortical oscillations? *Neuron* 17:297-308.

Baldwin TJ, Tsaur ML, Lopez GA, Jan YN, Jan LY (1991) Characterization of a mammalian cDNA for an inactivating voltage-sensitive K⁺ channel. *Neuron* 7:471-483.

Bear MF (1996) A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13453-13459.

Behnisch T, Reymann KG (1998) Inhibition of apamin-sensitive calcium dependent potassium channels facilitate the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus in vitro. *Neurosci Lett* 253:91-94.

Bekkers JM (2000) Distribution and activation of voltage-gated potassium channels in cell-attached and outside-out patches from large layer 5 cortical pyramidal neurons of the rat. *J Physiol* 525 Pt 3:611-620.

Bekkers JM, Delaney AJ (2001) Modulation of excitability by alpha-dendrotoxin-sensitive potassium channels in neocortical pyramidal neurons. *J Neurosci* 21:6553-6560.

Bell CC, Han VZ, Sugawara Y, Grant K (1997) Synaptic plasticity in a cerebellum-like structure depends on temporal order. *Nature* 387:278-281.

Bender RA, Galindo R, Mameli M, Gonzalez-Vega R, Valenzuela CF, Baram TZ (2005) Synchronized network activity in developing rat hippocampus involves regional hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channel function. *Eur J Neurosci* 22:2669-2674.

Bender RA, Soleymani SV, Brewster AL, Nguyen ST, Beck H, Mathern GW, Baram TZ (2003) Enhanced expression of a specific hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel (HCN) in surviving dentate gyrus granule cells of human and experimental epileptic hippocampus. *J Neurosci* 23:6826-6836.

Bender VA, Bender KJ, Brasier DJ, Feldman DE (2006) Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *J Neurosci* 26:4166-4177.

Benhassine N, Berger T (2005) Homogeneous distribution of large-conductance calcium-dependent potassium channels on soma and apical dendrite of rat neocortical layer 5 pyramidal neurons. *Eur J Neurosci* 21:914-926.

Berger T, Larkum ME, Luscher HR (2001) High I(h) channel density in the distal apical dendrite of layer V pyramidal cells increases bidirectional attenuation of EPSPs. *J Neurophysiol* 85:855-868.

Bi GQ, Poo MM (1998) Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci* 18:10464-10472.

Bichet D, Haass FA, Jan LY (2003) Merging functional studies with structures of inward-rectifier K(+) channels. *Nat Rev Neurosci* 4:957-967.

Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW (1982) Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2:32-48.

Bischofberger J, Jonas P (1997) Action potential propagation into the presynaptic dendrites of rat mitral cells. *J Physiol* 504 (Pt 2):359-365.

Bischofberger J, Schild D (1995) Different spatial patterns of [Ca²⁺] increase caused by N- and L-type Ca²⁺ channel activation in frog olfactory bulb neurones. *J Physiol* 487 (Pt 2):305-317.

Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.

Bliss TV, Gardner-Medwin AR (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:357-374.

Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.

- Bliss TV, Lomo T, Gardner-Medwin AR (1973) Macromolecules and Behaviour. (Ansell G, Bradley PB, eds), pp 193-203. MacMillan, London.
- Bois P, Bescond J, Renaudon B, Lenfant J (1996) Mode of action of bradycardic agent, S 16257, on ionic currents of rabbit sinoatrial node cells. *Br J Pharmacol* 118:1051-1057.
- Bortolotto ZA, Collingridge GL (1992) Activation of glutamate metabotropic receptors induces long-term potentiation. *Eur J Pharmacol* 214:297-298.
- Bortolotto ZA, Fitzjohn SM, Collingridge GL (1999) Roles of metabotropic glutamate receptors in LTP and LTD in the hippocampus. *Curr Opin Neurobiol* 9:299-304.
- Brager DH, Johnston D (2007) Plasticity of intrinsic excitability during long-term depression is mediated through mGluR-dependent changes in I(h) in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 27:13926-13937.
- Brauer AU, Savaskan NE, Kole MH, Plaschke M, Monteggia LM, Nestler EJ, Simburger E, Deisz RA, Ninnemann O, Nitsch R (2001) Molecular and functional analysis of hyperpolarization-activated pacemaker channels in the hippocampus after entorhinal cortex lesion. *FASEB J* 15:2689-2701.
- Breakwell NA, Rowan MJ, Anwyl R (1996) Metabotropic glutamate receptor dependent EPSP and EPSP-spike potentiation in area CA1 of the submerged rat hippocampal slice. *J Neurophysiol* 76:3126-3135.
- Brewster A, Bender RA, Chen Y, Dube C, Eghbal-Ahmadi M, Baram TZ (2002) Developmental febrile seizures modulate hippocampal gene expression of hyperpolarization-activated channels in an isoform- and cell-specific manner. *J Neurosci* 22:4591-4599.
- Brewster AL, Bernard JA, Gall CM, Baram TZ (2005) Formation of heteromeric hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels in the hippocampus is regulated by developmental seizures. *Neurobiol Dis* 19:200-207.
- Brickley SG, Revilla V, Cull-Candy SG, Wisden W, Farrant M (2001) Adaptive regulation of neuronal excitability by a voltage-independent potassium conductance. *Nature* 409:88-92.
- Brons JF, Woody CD (1980) Long-term changes in excitability of cortical neurons after Pavlovian conditioning and extinction. *J Neurophysiol* 44:605-615.
- Brown TH, Fricke RA, Perkel DH (1981) Passive electrical constants in three classes of hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 46:812-827.
- Buchs PA, Muller D (1996) Induction of long-term potentiation is associated with major ultrastructural changes of activated synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:8040-8045.
- Burrell BD, Sahley CL, Muller KJ (2001) Non-associative learning and serotonin induce similar bi-directional changes in excitability of a neuron critical for learning in the medicinal leech. *J Neurosci* 21:1401-1412.

C

- Cai X, Liang CW, Muralidharan S, Kao JP, Tang CM, Thompson SM (2004) Unique roles of SK and Kv4.2 potassium channels in dendritic integration. *Neuron* 44:351-364.
- Caillard O, Ben-Ari Y, Gaiarsa JL (1999) Long-term potentiation of GABAergic synaptic transmission in neonatal rat hippocampus. *J Physiol* 518 (Pt 1):109-119.
- Callaway JC, Ross WN (1995) Frequency-dependent propagation of sodium action potentials in dendrites of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 74:1395-1403.
- Campanac E, Debanne D (2007) Plasticity of neuronal excitability: Hebbian rules beyond the synapse. *Arch Ital Biol* 145:277-287.
- Campanac E, Debanne D (2008) Spike timing-dependent plasticity: a learning rule for dendritic integration in rat CA1 pyramidal neurons. *J Physiol* 586:779-793.
- Cangiano L, Wallen P, Grillner S (2002) Role of apamin-sensitive k(ca) channels for reticulospinal synaptic transmission to motoneuron and for the afterhyperpolarization. *J Neurophysiol* 88:289-299.
- Cantrell AR, Catterall WA (2001) Neuromodulation of Na⁺ channels: an unexpected form of cellular plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2:397-407.
- Cantrell AR, Ma JY, Scheuer T, Catterall WA (1996) Muscarinic modulation of sodium current by activation of protein kinase C in rat hippocampal neurons. *Neuron* 16:1019-1026.

- Cantrell AR, Tibbs VC, Yu FH, Murphy BJ, Sharp EM, Qu Y, Catterall WA, Scheuer T (2002) Molecular mechanism of convergent regulation of brain Na⁺ channels by protein kinase C and protein kinase A anchored to AKAP-15. *Mol Cell Neurosci* 21:63-80.
- Carlier E, Dargent B, De WM, Couraud F (2000) Na⁺ channel regulation by calmodulin kinase II in rat cerebellar granule cells. *Biochem Biophys Res Commun* 274:394-399.
- Carlier E, Sourdet V, Boudkkazi S, Deglise P, Ankri N, Fronzaroli-Molinieres L, Debanne D (2006) Metabotropic glutamate receptor subtype 1 regulates sodium currents in rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol* 577:141-154.
- Carr DB, Day M, Cantrell AR, Held J, Scheuer T, Catterall WA, Surmeier DJ (2003) Transmitter modulation of slow, activity-dependent alterations in sodium channel availability endows neurons with a novel form of cellular plasticity. *Neuron* 39:793-806.
- Carroll RC, Beattie EC, von ZM, Malenka RC (2001) Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2:315-324.
- Carroll RC, Zukin RS (2002) NMDA-receptor trafficking and targeting: implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends Neurosci* 25:571-577.
- Castillo PE, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Kainate receptors mediate a slow postsynaptic current in hippocampal CA3 neurons. *Nature* 388:182-186.
- Catterall WA (2000) Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16:521-555.
- Chavez-Noriega LE, Bliss TV, Halliwell JV (1989) The EPSP-spike (E-S) component of long-term potentiation in the rat hippocampal slice is modulated by GABAergic but not cholinergic mechanisms. *Neurosci Lett* 104:58-64.
- Chavez-Noriega LE, Halliwell JV, Bliss TV (1990) A decrease in firing threshold observed after induction of the EPSP-spike (E-S) component of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Exp Brain Res* 79:633-641.
- Chen C, Magee JC, Bazan NG (2002) Cyclooxygenase-2 regulates prostaglandin E₂ signaling in hippocampal long-term synaptic plasticity. *J Neurophysiol* 87:2851-2857.
- Chen H, Lambert NA (1997) Inhibition of dendritic calcium influx by activation of G-protein-coupled receptors in the hippocampus. *J Neurophysiol* 78:3484-3488.
- Chen K, Aradi I, Thon N, Eghbal-Ahmadi M, Baram TZ, Soltesz I (2001) Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* 7:331-337.
- Chen K, Baram TZ, Soltesz I (1999) Febrile seizures in the developing brain result in persistent modification of neuronal excitability in limbic circuits. *Nat Med* 5:888-894.
- Chen WR, Midtgaard J, Shepherd GM (1997) Forward and backward propagation of dendritic impulses and their synaptic control in mitral cells. *Science* 278:463-467.
- Chen X, Johnston D (2004) Properties of single voltage-dependent K⁺ channels in dendrites of CA1 pyramidal neurones of rat hippocampus. *J Physiol* 559:187-203.
- Chevaleyre V, Castillo PE (2002) Assessing the role of I_h channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:9538-9543.
- Christian EP, Dudek FE (1988) Electrophysiological evidence from glutamate microapplications for local excitatory circuits in the CA1 area of rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 59:110-123.
- Christie BR, Eliot LS, Ito K, Miyakawa H, Johnston D (1995) Different Ca²⁺ channels in soma and dendrites of hippocampal pyramidal neurons mediate spike-induced Ca²⁺ influx. *J Neurophysiol* 73:2553-2557.
- Clark BA, Monsivais P, Branco T, London M, Hausser M (2005) The site of action potential initiation in cerebellar Purkinje neurons. *Nat Neurosci* 8:137-139.
- Cobb SR, Buhl EH, Halasy K, Paulsen O, Somogyi P (1995) Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* 378:75-78.
- Cohen AS, Coussens CM, Raymond CR, Abraham WC (1999) Long-lasting increase in cellular excitability associated with the priming of LTP induction in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 82:3139-3148.
- Colbert CM, Johnston D (1998) Protein kinase C activation decreases activity-dependent attenuation of dendritic Na⁺ current in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 79:491-495.
- Colbert CM, Magee JC, Hoffman DA, Johnston D (1997) Slow recovery from inactivation of Na⁺ channels underlies the activity-dependent attenuation of dendritic action potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 17:6512-6521.

- Colbert CM, Pan E (2002) Ion channel properties underlying axonal action potential initiation in pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 5:533-538.
- Contractor A, Swanson G, Heinemann SF (2001) Kainate receptors are involved in short- and long-term plasticity at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Neuron* 29:209-216.
- COOMBS JS, CURTIS DR, ECCLES JC (1957) The generation of impulses in motoneurones. *J Physiol* 139:232-249.
- COOMBS JS, ECCLES JC, FATT P (1955) Excitatory synaptic action in motoneurones. *J Physiol* 130:374-395.
- Coulter DA, Lo Turco JJ, Kubota M, Disterhoft JF, Moore JW, Alkon DL (1989) Classical conditioning reduces amplitude and duration of calcium-dependent afterhyperpolarization in rabbit hippocampal pyramidal cells. *J Neurophysiol* 61:971-981.
- Cowan AI, Stricker C, Reece LJ, Redman SJ (1998) Long-term plasticity at excitatory synapses on aspiny interneurons in area CA1 lacks synaptic specificity. *J Neurophysiol* 79:13-20.
- Crill WE (1996) Persistent sodium current in mammalian central neurons. *Annu Rev Physiol* 58:349-362.
- Cudmore RH, Turrigiano GG (2004) Long-term potentiation of intrinsic excitability in LV visual cortical neurons. *J Neurophysiol* 92:341-348.

D

- D'Angelo E, Rossi P (1998) Integrated regulation of signal coding and plasticity by NMDA receptors at a central synapse. *Neural Plast* 6:8-16.
- Dan Y, Poo MM (2006) Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* 86:1033-1048.
- Daoudal G, Debanne D (2003) Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* 10:456-465.
- Daoudal G, Hanada Y, Debanne D (2002) Bidirectional plasticity of excitatory postsynaptic potential (EPSP)-spike coupling in CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:14512-14517.
- Davie JT, Kole MH, Letzkus JJ, Rancz EA, Spruston N, Stuart GJ, Hausser M (2006) Dendritic patch-clamp recording. *Nat Protoc* 1:1235-1247.
- Davies CH, Clarke VR, Jane DE, Collingridge GL (1995) Pharmacology of postsynaptic metabotropic glutamate receptors in rat hippocampal CA1 pyramidal neurones. *Br J Pharmacol* 116:1859-1869.
- Davis GW, Bezprozvanny I (2001) Maintaining the stability of neural function: a homeostatic hypothesis. *Annu Rev Physiol* 63:847-869.
- Daw N, Rao Y, Wang XF, Fischer Q, Yang Y (2004) LTP and LTD vary with layer in rodent visual cortex. *Vision Res* 44:3377-3380.
- de Jonge MC, Black J, Deyo RA, Disterhoft JF (1990) Learning-induced afterhyperpolarization reductions in hippocampus are specific for cell type and potassium conductance. *Exp Brain Res* 80:456-462.
- de La Pena E., Geijo-Barrientos E (2000) Participation of low-threshold calcium spikes in excitatory synaptic transmission in guinea pig medial frontal cortex. *Eur J Neurosci* 12:1679-1686.
- Debanne D (1996) Associative synaptic plasticity in hippocampus and visual cortex: cellular mechanisms and functional implications. *Rev Neurosci* 7:29-46.
- Debanne D, Gahwiler BH, Thompson SM (1998) Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *J Physiol* 507 (Pt 1):237-247.
- Debanne D, Gahwiler BH, Thompson SM (1994) Asynchronous pre- and postsynaptic activity induces associative long-term depression in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:1148-1152.
- Debanne D, Guerineau NC, Gahwiler BH, Thompson SM (1995) Physiology and pharmacology of unitary synaptic connections between pairs of cells in areas CA3 and CA1 of rat hippocampal slice cultures. *J Neurophysiol* 73:1282-1294.
- Debanne D, Daoudal G, Sourdet V, Russier M (2003) Brain plasticity and ion channels. *J Physiol Paris* 97:403-414.
- Deisz RA, Fortin G, Zieglansberger W (1991) Voltage dependence of excitatory postsynaptic potentials of rat neocortical neurons. *J Neurophysiol* 65:371-382.
- Desai NS, Rutherford LC, Turrigiano GG (1999) Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 2:515-520.

Desjardins AE, Li YX, Reinker S, Miura RM, Neuman RS (2003) The influences of Ih on temporal summation in hippocampal CA1 pyramidal neurons: a modeling study. *J Comput Neurosci* 15:131-142.

Dickson CT, Magistretti J, Shalinsky MH, Fransen E, Hasselmo ME, Alonso A (2000) Properties and role of I(h) in the pacing of subthreshold oscillations in entorhinal cortex layer II neurons. *J Neurophysiol* 83:2562-2579.

DiFrancesco D (1994) Some properties of the UL-FS 49 block of the hyperpolarization-activated current (i(f)) in sino-atrial node myocytes. *Pflugers Arch* 427:64-70.

DiFrancesco D, Tortora P (1991) Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP. *Nature* 351:145-147.

Disterhoft JF, Coulter DA, Alkon DL (1986) Conditioning-specific membrane changes of rabbit hippocampal neurons measured in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:2733-2737.

Douglas RM, Goddard GV (1975) Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Res* 86:205-215.

Dudek SM, Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4363-4367.

Dunlap K, Luebke JI, Turner TJ (1995) Exocytotic Ca²⁺ channels in mammalian central neurons. *Trends Neurosci* 18:89-98.

Dunwiddie T, Lynch G (1978) Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *J Physiol* 276:353-367.

E-F

Eccles JC (1964) *The physiology of synapses*. New York: Academic Press.

Echegoyen J, Neu A, Graber KD, Soltesz I (2007) Homeostatic plasticity studied using in vivo hippocampal activity-blockade: synaptic scaling, intrinsic plasticity and age-dependence. *PLoS ONE* 2:e700.

Egorov AV, Hamam BN, Fransen E, Hasselmo ME, Alonso AA (2002) Graded persistent activity in entorhinal cortex neurons. *Nature* 420:173-178.

Engert F, Bonhoeffer T (1999) Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399:66-70.

Etheredge JA, Murchison D, Abbott LC, Griffith WH (2007) Functional compensation by other voltage-gated Ca²⁺ channels in mouse basal forebrain neurons with Ca(V)_{2.1} mutations. *Brain Res* 1140:105-119.

Faber ES, Delaney AJ, Sah P (2005) SK channels regulate excitatory synaptic transmission and plasticity in the lateral amygdala. *Nat Neurosci* 8:635-641.

Fan Y, Fricker D, Brager DH, Chen X, Lu HC, Chitwood RA, Johnston D (2005) Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in I(h). *Nat Neurosci* 8:1542-1551.

FATT P (1957) Sequence of events in synaptic activation of a motoneurone. *J Neurophysiol* 20:61-80.

Feldman DE, Nicoll RA, Malenka RC (1999) Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD, and silent synapses. *J Neurobiol* 41:92-101.

Fisher RE, Gray R, Johnston D (1990) Properties and distribution of single voltage-gated calcium channels in adult hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 64:91-104.

Fitzjohn SM, Palmer MJ, May JE, Neeson A, Morris SA, Collingridge GL (2001) A characterisation of long-term depression induced by metabotropic glutamate receptor activation in the rat hippocampus in vitro. *J Physiol* 537:421-430.

Foehring RC, Mermelstein PG, Song WJ, Ulrich S, Surmeier DJ (2000) Unique properties of R-type calcium currents in neocortical and neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 84:2225-2236.

Frégnac Y, Shulz D (1994) In: *Advances in Neural and Behavioral Development* pp 97-109.

French CR, Sah P, Buckett KJ, Gage PW (1990) A voltage-dependent persistent sodium current in mammalian hippocampal neurons. *J Gen Physiol* 95:1139-1157.

Freund TF, Buzsaki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347-470.

Frick A, Johnston D (2005) Plasticity of dendritic excitability. *J Neurobiol* 64:100-115.

Frick A, Magee J, Johnston D (2004) LTP is accompanied by an enhanced local excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* 7:126-135.

Fricker D, Miles R (2000) EPSP amplification and the precision of spike timing in hippocampal neurons. *Neuron* 28:559-569.

Fricker D, Verheugen JA, Miles R (1999) Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* 517 (Pt 3):791-804.

FUORTES MG, FRANK K, BECKER MC (1957) Steps in the production of motoneuron spikes. *J Gen Physiol* 40:735-752.

G

Gahwiler BH, Brown DA (1985) GABAB-receptor-activated K⁺ current in voltage-clamped CA3 pyramidal cells in hippocampal cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:1558-1562.

Gainutdinov KL, Andrianov VV, Gainutdinova TK, Tarasova EA (2000) The electrical characteristics of command and motor neurons during acquisition of a conditioned defensive reflex and formation of long-term sensitization in snails. *Neurosci Behav Physiol* 30:81-88.

Gainutdinov KL, Chekmarev LJ, Gainutdinova TH (1998) Excitability increase in withdrawal interneurons after conditioning in snail. *Neuroreport* 9:517-520.

Ganguly K, Kiss L, Poo M (2000) Enhancement of presynaptic neuronal excitability by correlated presynaptic and postsynaptic spiking. *Nat Neurosci* 3:1018-1026.

Gasparini S, DiFrancesco D (1997) Action of the hyperpolarization-activated current (I_h) blocker ZD 7288 in hippocampal CA1 neurons. *Pflugers Arch* 435:99-106.

Gasparini S, Magee JC (2002) Phosphorylation-dependent differences in the activation properties of distal and proximal dendritic Na⁺ channels in rat CA1 hippocampal neurons. *J Physiol* 541:665-672.

Gillessen T, Alzheimer C (1997) Amplification of EPSPs by low Ni²⁺- and amiloride-sensitive Ca²⁺ channels in apical dendrites of rat CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 77:1639-1643.

Goethals M, Raes A, van Bogaert PP (1993) Use-dependent block of the pacemaker current I(f) in rabbit sinoatrial node cells by zatebradine (UL-FS 49). On the mode of action of sinus node inhibitors. *Circulation* 88:2389-2401.

Golding NL, Jung HY, Mickus T, Spruston N (1999) Dendritic calcium spike initiation and repolarization are controlled by distinct potassium channel subtypes in CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 19:8789-8798.

Goldstein SA, Bockenhauer D, O'Kelly I, Zilberberg N (2001) Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits. *Nat Rev Neurosci* 2:175-184.

Golowasch J, Goldman MS, Abbott LF, Marder E (2002) Failure of averaging in the construction of a conductance-based neuron model. *J Neurophysiol* 87:1129-1131.

Gonzalez-Burgos G, Barrionuevo G (2001) Voltage-gated sodium channels shape subthreshold EPSPs in layer 5 pyramidal neurons from rat prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 86:1671-1684.

Gravante B, Barbuti A, Milanese R, Zappi I, Viscomi C, DiFrancesco D (2004) Interaction of the pacemaker channel HCN1 with filamin A. *J Biol Chem* 279:43847-43853.

Gustafsson B, Wigstrom H, Abraham WC, Huang YY (1987) Long-term potentiation in the hippocampus using depolarizing current pulses as the conditioning stimulus to single volley synaptic potentials. *J Neurosci* 7:774-780.

Gutman GA, Chandy KG, Grissmer S, Lazdunski M, McKinnon D, Pardo LA, Robertson GA, Rudy B, Sanguinetti MC, Stuhmer W, Wang X (2005) International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacol Rev* 57:473-508.

H-I

- Hammond RS, Bond CT, Strassmaier T, Ngo-Anh TJ, Adelman JP, Maylie J, Stackman RW (2006) Small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel type 2 (SK2) modulates hippocampal learning, memory, and synaptic plasticity. *J Neurosci* 26:1844-1853.
- Hausser M, Stuart G, Racca C, Sakmann B (1995) Axonal initiation and active dendritic propagation of action potentials in substantia nigra neurons. *Neuron* 15:637-647.
- Hawkins RD, Son H, Arancio O (1998) Nitric oxide as a retrograde messenger during long-term potentiation in hippocampus. *Prog Brain Res* 118:155-172.
- Hebb D (1949) In: *The Organization of Behaviour* New York: John Wiley & Sons.
- Henze DA, Buzsaki G (2001) Action potential threshold of hippocampal pyramidal cells in vivo is increased by recent spiking activity. *Neuroscience* 105:121-130.
- Hess G, Gustafsson B (1990) Changes in field excitatory postsynaptic potential shape induced by tetanization in the CA1 region of the guinea-pig hippocampal slice. *Neuroscience* 37:61-69.
- Hestrin S, Nicoll RA, Perkel DJ, Sah P (1990) Analysis of excitatory synaptic action in pyramidal cells using whole-cell recording from rat hippocampal slices. *J Physiol* 422:203-225.
- Hoffman DA, Johnston D (1999) Neuromodulation of dendritic action potentials. *J Neurophysiol* 81:408-411.
- Hoffman DA, Johnston D (1998) Downregulation of transient K^{+} channels in dendrites of hippocampal CA1 pyramidal neurons by activation of PKA and PKC. *J Neurosci* 18:3521-3528.
- Hoffman DA, Magee JC, Colbert CM, Johnston D (1997) K^{+} channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Nature* 387:869-875.
- Hoogland TM, Saggau P (2004) Facilitation of L-type Ca^{2+} channels in dendritic spines by activation of beta2 adrenergic receptors. *J Neurosci* 24:8416-8427.
- Hu GY, Hvalby O, Lacaille JC, Piercey B, Ostberg T, Andersen P (1992) Synaptically triggered action potentials begin as a depolarizing ramp in rat hippocampal neurones in vitro. *J Physiol* 453:663-687.
- Huettnner JE (2001) Kainate receptors: knocking out plasticity. *Trends Neurosci* 24:365-366.
- Huguenard JR (1996) Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons. *Annu Rev Physiol* 58:329-348.
- Ireland DR, Abraham WC (2002) Group I mGluRs increase excitability of hippocampal CA1 pyramidal neurons by a PLC-independent mechanism. *J Neurophysiol* 88:107-116.
- Isomura Y, Fujiwara-Tsukamoto Y, Imanishi M, Nambu A, Takada M (2002) Distance-dependent Ni^{2+} -sensitivity of synaptic plasticity in apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 87:1169-1174.

J-K

- Jan LY, Jan YN (1997) Voltage-gated and inwardly rectifying potassium channels. *J Physiol* 505 (Pt 2):267-282.
- Jester JM, Campbell LW, Sejnowski TJ (1995) Associative EPSP--spike potentiation induced by pairing orthodromic and antidromic stimulation in rat hippocampal slices. *J Physiol* 484 (Pt 3):689-705.
- Johnston D, Brown TH (1981) Giant synaptic potential hypothesis for epileptiform activity. *Science* 211:294-297.
- Karmarkar UR, Buonomano DV (2002) A model of spike-timing dependent plasticity: one or two coincidence detectors? *J Neurophysiol* 88:507-513.
- Kavalali ET, Hwang KS, Plummer MR (1997a) cAMP-dependent enhancement of dihydropyridine-sensitive calcium channel availability in hippocampal neurons. *J Neurosci* 17:5334-5348.
- Kavalali ET, Zhuo M, Bito H, Tsien RW (1997b) Dendritic Ca^{2+} channels characterized by recordings from isolated hippocampal dendritic segments. *Neuron* 18:651-663.
- Kelso SR, Ganong AH, Brown TH (1986) Hebbian synapses in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:5326-5330.

- Kim J, Jung SC, Clemens AM, Petralia RS, Hoffman DA (2007) Regulation of dendritic excitability by activity-dependent trafficking of the A-type K⁺ channel subunit Kv4.2 in hippocampal neurons. *Neuron* 54:933-947.
- Kimura K, Kitano J, Nakajima Y, Nakanishi S (2004) Hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated HCN2 cation channel forms a protein assembly with multiple neuronal scaffold proteins in distinct modes of protein-protein interaction. *Genes Cells* 9:631-640.
- Kole MH, Brauer AU, Stuart GJ (2007) Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol* 578:507-525.
- Kornegreen A, Sakmann B (2000) Voltage-gated K⁺ channels in layer 5 neocortical pyramidal neurones from young rats: subtypes and gradients. *J Physiol* 525 Pt 3:621-639.
- Koyano K, Funabiki K, Ohmori H (1996) Voltage-gated ionic currents and their roles in timing coding in auditory neurons of the nucleus mesencephalicus profundus of the chick. *Neurosci Res* 26:29-45.
- Kullmann DM (2002) Genetics of epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73 Suppl 2:II32-II35.
- Kullmann DM (2001) Presynaptic kainate receptors in the hippocampus: slowly emerging from obscurity. *Neuron* 32:561-564.
- Kullmann DM (1999) Synaptic and extrasynaptic roles of glutamate in the mammalian hippocampus. *Acta Physiol Scand* 166:79-83.
- Kullmann DM, Lamsa KP (2007) Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nat Rev Neurosci* 8:687-699.
- Kullmann DM, Nicoll RA (1992) Long-term potentiation is associated with increases in quantal content and quantal amplitude. *Nature* 357:240-244.
- Kullmann DM, Perkel DJ, Manabe T, Nicoll RA (1992) Ca²⁺ entry via postsynaptic voltage-sensitive Ca²⁺ channels can transiently potentiate excitatory synaptic transmission in the hippocampus. *Neuron* 9:1175-1183.

L

- Lai HC, Jan LY (2006) The distribution and targeting of neuronal voltage-gated ion channels. *Nat Rev Neurosci* 7:548-562.
- Lamsa K, Heeroma JH, Kullmann DM (2005) Hebbian LTP in feed-forward inhibitory interneurons and the temporal fidelity of input discrimination. *Nat Neurosci* 8:916-924.
- Lamsa KP, Heeroma JH, Somogyi P, Rusakov DA, Kullmann DM (2007) Anti-Hebbian long-term potentiation in the hippocampal feedback inhibitory circuit. *Science* 315:1262-1266.
- Lapique L (1907) Recherches quantitatives sur l'excitation électrique des nerfs traitée comme une polarisation. *Journal de Physiol et de Pathol gén* 9:620-635.
- Lapointe V, Morin F, Ratte S, Croce A, Conquet F, Lacaille JC (2004) Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *J Physiol* 555:125-135.
- Larkum ME, Rioult MG, Lüscher HR (1996) Propagation of action potentials in the dendrites of neurons from rat spinal cord slice cultures. *J Neurophysiol* 75:154-170.
- Lasser-Ross N, Ross WN (1992) Imaging voltage and synaptically activated sodium transients in cerebellar Purkinje cells. *Proc Biol Sci* 247:35-39.
- Lerma J (2003) Roles and rules of kainate receptors in synaptic transmission. *Nat Rev Neurosci* 4:481-495.
- Lester RA, Clements JD, Westbrook GL, Jahr CE (1990) Channel kinetics determine the time course of NMDA receptor-mediated synaptic currents. *Nature* 346:565-567.
- Letzkus JJ, Kampa BM, Stuart GJ (2006) Learning rules for spike timing-dependent plasticity depend on dendritic synapse location. *J Neurosci* 26:10420-10429.
- Li CY, Lu JT, Wu CP, Duan SM, Poo MM (2004) Bidirectional modification of presynaptic neuronal excitability accompanying spike timing-dependent synaptic plasticity. *Neuron* 41:257-268.
- Lipowsky R, Gillespie T, Alzheimer C (1996) Dendritic Na⁺ channels amplify EPSPs in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 76:2181-2191.

- Lisman J, Schulman H, Cline H (2002) The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 3:175-190.
- Liu Z, Golowasch J, Marder E, Abbott LF (1998) A model neuron with activity-dependent conductances regulated by multiple calcium sensors. *J Neurosci* 18:2309-2320.
- Llinas R, Sugimori M (1980a) Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell dendrites in mammalian cerebellar slices. *J Physiol* 305:197-213.
- Llinas R, Sugimori M (1980b) Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell somata in mammalian cerebellar slices. *J Physiol* 305:171-195.
- Lorincz A, Notomi T, Tamas G, Shigemoto R, Nusser Z (2002) Polarized and compartment-dependent distribution of HCN1 in pyramidal cell dendrites. *Nat Neurosci* 5:1185-1193.
- Lu B (2003) BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learn Mem* 10:86-98.
- Lu YM, Mansuy IM, Kandel ER, Roder J (2000) Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron* 26:197-205.
- Ludwig A, Zong X, Jeglitsch M, Hofmann F, Biel M (1998) A family of hyperpolarization-activated mammalian cation channels. *Nature* 393:587-591.
- Lujan R, Albasanz JL, Shigemoto R, Juiz JM (2005) Preferential localization of the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel subunit HCN1 in basket cell terminals of the rat cerebellum. *Eur J Neurosci* 21:2073-2082.
- Lupica CR, Bell JA, Hoffman AF, Watson PL (2001) Contribution of the hyperpolarization-activated current (I_h) to membrane potential and GABA release in hippocampal interneurons. *J Neurophysiol* 86:261-268.
- Luscher C, Jan LY, Stoffel M, Malenka RC, Nicoll RA (1997) G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron* 19:687-695.
- Luscher C, Nicoll RA, Malenka RC, Muller D (2000) Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane. *Nat Neurosci* 3:545-550.
- Luthi A, Bal T, McCormick DA (1998) Periodicity of thalamic spindle waves is abolished by ZD7288, a blocker of I_h. *J Neurophysiol* 79:3284-3289.
- Luthi A, McCormick DA (1999) Modulation of a pacemaker current through Ca(2+)-induced stimulation of cAMP production. *Nat Neurosci* 2:634-641.
- Lynch MA (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84:87-136.

M

- Maccaferri G, Mangoni M, Lazzari A, DiFrancesco D (1993) Properties of the hyperpolarization-activated current in rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 69:2129-2136.
- Maccaferri G, McBain CJ (1996) Long-term potentiation in distinct subtypes of hippocampal nonpyramidal neurons. *J Neurosci* 16:5334-5343.
- MacLean JN, Zhang Y, Goeritz ML, Casey R, Oliva R, Guckenheimer J, Harris-Warrick RM (2005) Activity-independent coregulation of I_A and I_h in rhythmically active neurons. *J Neurophysiol* 94:3601-3617.
- MacLean JN, Zhang Y, Johnson BR, Harris-Warrick RM (2003) Activity-independent homeostasis in rhythmically active neurons. *Neuron* 37:109-120.
- MacVicar BA, Dudek FE (1980) Local synaptic circuits in rat hippocampus: interactions between pyramidal cells. *Brain Res* 184:220-223.
- Madeja M (2000) Do neurons have a reserve of sodium channels for the generation of action potentials? A study on acutely isolated CA1 neurons from the guinea-pig hippocampus. *Eur J Neurosci* 12:1-7.
- Magee JC (1998) Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 18:7613-7624.
- Magee JC (1999) Dendritic I_h normalizes temporal summation in hippocampal CA1 neurons. *Nat Neurosci* 2:848.

- Magee JC, Avery RB, Christie BR, Johnston D (1996) Dihydropyridine-sensitive, voltage-gated Ca^{2+} channels contribute to the resting intracellular Ca^{2+} concentration of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 76:3460-3470.
- Magee JC, Johnston D (1995) Characterization of single voltage-gated Na^{+} and Ca^{2+} channels in apical dendrites of rat CA1 pyramidal neurons. *J Physiol* 487 (Pt 1):67-90.
- Mainen ZF, Joerges J, Huguenard JR, Sejnowski TJ (1995) A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 15:1427-1439.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.
- Maletic-Savatic M, Malinow R, Svoboda K (1999) Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science* 283:1923-1927.
- Malinow R, Malenka RC (2002) AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 25:103-126.
- Marder CP, Buonomano DV (2003) Differential effects of short- and long-term potentiation on cell firing in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurosci* 23:112-121.
- Marder CP, Buonomano DV (2004) Timing and balance of inhibition enhance the effect of long-term potentiation on cell firing. *J Neurosci* 24:8873-8884.
- Marrion NV, Tavalin SJ (1998) Selective activation of Ca^{2+} -activated K^{+} channels by co-localized Ca^{2+} channels in hippocampal neurons. *Nature* 395:900-905.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.
- Martina M, Schultz JH, Ehmke H, Monyer H, Jonas P (1998) Functional and molecular differences between voltage-gated K^{+} channels of fast-spiking interneurons and pyramidal neurons of rat hippocampus. *J Neurosci* 18:8111-8125.
- Martina M, Yao GL, Bean BP (2003) Properties and functional role of voltage-dependent potassium channels in dendrites of rat cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 23:5698-5707.
- Mathie A, Wooltorton JR, Watkins CS (1998) Voltage-activated potassium channels in mammalian neurons and their block by novel pharmacological agents. *Gen Pharmacol* 30:13-24.
- Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429:761-766.
- Maurice N, Tkatch T, Meisler M, Sprunger LK, Surmeier DJ (2001) D1/D5 dopamine receptor activation differentially modulates rapidly inactivating and persistent sodium currents in prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurosci* 21:2268-2277.
- Mayer ML, Westbrook GL, Guthrie PB (1984) Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature* 309:261-263.
- McBain CJ, Maccaferri G (1997) Synaptic plasticity in hippocampal interneurons? A commentary. *Can J Physiol Pharmacol* 75:488-494.
- McCormick DA, Bal T (1997) Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci* 20:185-215.
- McKernan RM, Whiting PJ (1996) Which GABAA-receptor subtypes really occur in the brain? *Trends Neurosci* 19:139-143.
- McKinney RA, Capogna M, Durr R, Gähwiler BH, Thompson SM (1999) Miniature synaptic events maintain dendritic spines via AMPA receptor activation. *Nat Neurosci* 2:44-49.
- McLean HA, Caillard O, Ben-Ari Y, Gaiarsa JL (1996a) Bidirectional plasticity expressed by GABAergic synapses in the neonatal rat hippocampus. *J Physiol* 496 (Pt 2):471-477.
- McLean HA, Caillard O, Khazipov R, Ben-Ari Y, Gaiarsa JL (1996b) Spontaneous release of GABA activates GABAB receptors and controls network activity in the neonatal rat hippocampus. *J Neurophysiol* 76:1036-1046.
- McNaughton BL, Shen J, Rao G, Foster TC, Barnes CA (1994) Persistent increase of hippocampal presynaptic axon excitability after repetitive electrical stimulation: dependence on N-methyl-D-aspartate receptor activity, nitric-oxide synthase, and temperature. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:4830-4834.
- Mee CJ, Pym EC, Moffat KG, Baines RA (2004) Regulation of neuronal excitability through pumilio-dependent control of a sodium channel gene. *J Neurosci* 24:8695-8703.

- Melyan Z, Lancaster B, Wheal HV (2004) Metabotropic regulation of intrinsic excitability by synaptic activation of kainate receptors. *J Neurosci* 24:4530-4534.
- Melyan Z, Wheal HV, Lancaster B (2002) Metabotropic-mediated kainate receptor regulation of IAHP and excitability in pyramidal cells. *Neuron* 34:107-114.
- Mendoza E, Galarraga E, Tapia D, Laville A, Hernandez-Echeagaray E, Bargas J (2006) Differential induction of long term synaptic plasticity in inhibitory synapses of the hippocampus. *Synapse* 60:533-542.
- Mickus T, Jung H, Spruston N (1999) Properties of slow, cumulative sodium channel inactivation in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Biophys J* 76:846-860.
- Miles R, Poncer JC (1993) Metabotropic glutamate receptors mediate a post-tetanic excitation of guinea-pig hippocampal inhibitory neurones. *J Physiol* 463:461-473.
- Miles R, Wong RK (1986) Excitatory synaptic interactions between CA3 neurones in the guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 373:397-418.
- Misonou H, Mohapatra DP, Park EW, Leung V, Zhen D, Misonou K, Anderson AE, Trimmer JS (2004) Regulation of ion channel localization and phosphorylation by neuronal activity. *Nat Neurosci* 7:711-718.
- Misonou H, Mohapatra DP, Trimmer JS (2005) Kv2.1: a voltage-gated k⁺ channel critical to dynamic control of neuronal excitability. *Neurotoxicology* 26:743-752.
- Mittmann T, Alzheimer C (1998) Muscarinic inhibition of persistent Na⁺ current in rat neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 79:1579-1582.
- Monteggia LM, Eisch AJ, Tang MD, Kaczmarek LK, Nestler EJ (2000) Cloning and localization of the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel family in rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 81:129-139.
- Morris RG, Willshaw DJ (1989) Memory. Must what goes up come down? *Nature* 339:175-176.
- Moyer JR, Jr., Thompson LT, Disterhoft JF (1996) Trace eyeblink conditioning increases CA1 excitability in a transient and learning-specific manner. *J Neurosci* 16:5536-5546.
- Mulkey RM, Malenka RC (1992) Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9:967-975.

N

- Nathan T, Jensen MS, Lambert JD (1990) The slow inhibitory postsynaptic potential in rat hippocampal CA1 neurones is blocked by intracellular injection of QX-314. *Neurosci Lett* 110:309-313.
- Nedergaard S (1999) Regulation of action potential size and excitability in substantia nigra compacta neurons: sensitivity to 4-aminopyridine. *J Neurophysiol* 82:2903-2913.
- Nernst W (1908) Zur Theorie deselektischen Reizes. *Pflügers Arch ges Physiol* 122:275-314.
- Nevian T, Sakmann B (2006) Spine Ca²⁺ signaling in spike-timing-dependent plasticity. *J Neurosci* 26:11001-11013.
- Ngo-Anh TJ, Bloodgood BL, Lin M, Sabatini BL, Maylie J, Adelman JP (2005) SK channels and NMDA receptors form a Ca²⁺-mediated feedback loop in dendritic spines. *Nat Neurosci* 8:642-649.
- Nicoll A, Larkman A, Blakemore C (1993) Modulation of EPSP shape and efficacy by intrinsic membrane conductances in rat neocortical pyramidal neurons in vitro. *J Physiol* 468:693-710.
- Nikonenko I, Jourdain P, Alberi S, Toni N, Muller D (2002) Activity-induced changes of spine morphology. *Hippocampus* 12:585-591.
- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408:584-588.
- Noble D, Stein RB (1966) The threshold conditions for initiation of action potentials by excitable cells. *J Physiol* 187:129-162.
- Noebels JL (2003) The biology of epilepsy genes. *Annu Rev Neurosci* 26:599-625.

- Nolan MF, Malleret G, Dudman JT, Buhl DL, Santoro B, Gibbs E, Vronskaya S, Buzsaki G, Siegelbaum SA, Kandel ER, Morozov A (2004) A behavioral role for dendritic integration: HCN1 channels constrain spatial memory and plasticity at inputs to distal dendrites of CA1 pyramidal neurons. *Cell* 119:719-732.
- Nolan MF, Malleret G, Lee KH, Gibbs E, Dudman JT, Santoro B, Yin D, Thompson RF, Siegelbaum SA, Kandel ER, Morozov A (2003) The hyperpolarization-activated HCN1 channel is important for motor learning and neuronal integration by cerebellar Purkinje cells. *Cell* 115:551-564.
- Noma A, Irisawa H (1976) Membrane currents in the rabbit sinoatrial node cell as studied by the double microelectrode method. *Pflugers Arch* 364:45-52.
- Normann C, Peckys D, Schulze CH, Walden J, Jonas P, Bischofberger J (2000) Associative long-term depression in the hippocampus is dependent on postsynaptic N-type Ca²⁺ channels. *J Neurosci* 20:8290-8297.
- Notomi T, Shigemoto R (2004) Immunohistochemical localization of Ih channel subunits, HCN1-4, in the rat brain. *J Comp Neurol* 471:241-276.
- Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbert A, Prochiantz A (1984) Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 307:462-465.

O-P

- Oh MM, Kuo AG, Wu WW, Sametsky EA, Disterhoft JF (2003) Watermaze learning enhances excitability of CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 90:2171-2179.
- Oliver D, Lien CC, Soom M, Baukowitz T, Jonas P, Fakler B (2004) Functional conversion between A-type and delayed rectifier K⁺ channels by membrane lipids. *Science* 304:265-270.
- Ottersen OP, Landsend AS (1997) Organization of glutamate receptors at the synapse. *Eur J Neurosci* 9:2219-2224.
- Ouardouz M, Lacaille JC (1995) Mechanisms of selective long-term potentiation of excitatory synapses in stratum oriens/alveus interneurons of rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 73:810-819.
- Oviedo H, Reyes AD (2002) Boosting of neuronal firing evoked with asynchronous and synchronous inputs to the dendrite. *Nat Neurosci* 5:261-266.
- Palmer LM, Stuart GJ (2006) Site of action potential initiation in layer 5 pyramidal neurons. *J Neurosci* 26:1854-1863.
- Pape HC (1996) Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu Rev Physiol* 58:299-327.
- Parra P, Gulyas AI, Miles R (1998) How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* 20:983-993.
- Patel AJ, Honore E (2001) Properties and modulation of mammalian 2P domain K⁺ channels. *Trends Neurosci* 24:339-346.
- Patenaude C, Massicotte G, Lacaille JC (2005) Cell-type specific GABA synaptic transmission and activity-dependent plasticity in rat hippocampal stratum radiatum interneurons. *Eur J Neurosci* 22:179-188.
- Pedarzani P, Storm JF (1995) Protein kinase A-independent modulation of ion channels in the brain by cyclic AMP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:11716-11720.
- Perouansky M, Yaari Y (1993) Kinetic properties of NMDA receptor-mediated synaptic currents in rat hippocampal pyramidal cells versus interneurons. *J Physiol* 465:223-244.
- Petersen SA, Fetter RD, Noordermeer JN, Goodman CS, DiAntonio A (1997) Genetic analysis of glutamate receptors in *Drosophila* reveals a retrograde signal regulating presynaptic transmitter release. *Neuron* 19:1237-1248.
- Petresca K, Miller DM, Shrier A (2000) Localization and enhanced current density of the Kv4.2 potassium channel by interaction with the actin-binding protein filamin. *J Neurosci* 20:8736-8744.
- Pian P, Bucci A, Robinson RB, Siegelbaum SA (2006) Regulation of gating and rundown of HCN hyperpolarization-activated channels by exogenous and endogenous PIP₂. *J Gen Physiol* 128:593-604.
- Pin JP, Duvoisin R (1995) The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* 34:1-26.
- Pittenger C, Kandel ER (2003) In search of general mechanisms for long-lasting plasticity: Aplysia and the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:757-763.

Poolos NP, Johnston D (1999) Calcium-activated potassium conductances contribute to action potential repolarization at the soma but not the dendrites of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 19:5205-5212.

Poolos NP, Migliore M, Johnston D (2002) Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* 5:767-774.

Pouille F, Scanziani M (2001) Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science* 293:1159-1163.

Prinz AA, Billimoria CP, Marder E (2003) Alternative to hand-tuning conductance-based models: construction and analysis of databases of model neurons. *J Neurophysiol* 90:3998-4015.

Prinz AA, Abbott LF, Marder E (2004) The dynamic clamp comes of age. *Trends Neurosci* 27:218-224.

Prinz AA, Bucher D, Marder E (2004) Similar network activity from disparate circuit parameters. *Nat Neurosci* 7:1345-1352.

Proenza C, Angoli D, Agranovich E, Macri V, Accili EA (2002) Pacemaker channels produce an instantaneous current. *J Biol Chem* 277:5101-5109.

Q-R

Qiu DL, Chu CP, Shirasaka T, Tsukino H, Nakao H, Kato K, Kunitake T, Kato T, Kannan H (2005) Corticotrophin-releasing factor augments the I(H) in rat hypothalamic paraventricular nucleus parvocellular neurons in vitro. *J Neurophysiol* 94:226-234.

Rall W (1967) Distinguishing theoretical synaptic potentials computed for different soma-dendritic distributions of synaptic input. *J Neurophysiol* 30:1138-1168.

Ramakers GM, Storm JF (2002) A postsynaptic transient K(+) current modulated by arachidonic acid regulates synaptic integration and threshold for LTP induction in hippocampal pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:10144-10149.

Rapp M, Yarom Y, Segev I (1996) Modeling back propagating action potential in weakly excitable dendrites of neocortical pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:11985-11990.

Rateau Y, Ropert N (2006) Expression of a functional hyperpolarization-activated current (Ih) in the mouse nucleus reticularis thalami. *J Neurophysiol* 95:3073-3085.

Raymond CR (2007) LTP forms 1, 2 and 3: different mechanisms for the "long" in long-term potentiation. *Trends Neurosci* 30:167-175.

Reyes A (2001) Influence of dendritic conductances on the input-output properties of neurons. *Annu Rev Neurosci* 24:653-675.

Robinson RB, Brink PR, Cohen IS, Rosen MR (2006) I(f) and the biological pacemaker. *Pharmacol Res* 53:407-415.

Robinson RB, Siegelbaum SA (2003) Hyperpolarization-activated cation currents: from molecules to physiological function. *Annu Rev Physiol* 65:453-480.

Rosenkranz JA, Johnston D (2007) State-dependent modulation of amygdala inputs by dopamine-induced enhancement of sodium currents in layer V entorhinal cortex. *J Neurosci* 27:7054-7069.

Ross ST, Soltesz I (2001) Long-term plasticity in interneurons of the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:8874-8879.

Rotaru DC, Lewis DA, Gonzalez-Burgos G (2007) Dopamine D1 receptor activation regulates sodium channel-dependent EPSP amplification in rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Physiol* 581:981-1000.

S

Saar D, Grossman Y, Barkai E (1998) Reduced after-hyperpolarization in rat piriform cortex pyramidal neurons is associated with increased learning capability during operant conditioning. *Eur J Neurosci* 10:1518-1523.

Saar D, Grossman Y, Barkai E (2001) Long-lasting cholinergic modulation underlies rule learning in rats. *J Neurosci* 21:1385-1392.

Sah P (1996) Ca(2+)-activated K+ currents in neurones: types, physiological roles and modulation. *Trends Neurosci* 19:150-154.

Sah P, Bekkers JM (1996) Apical dendritic location of slow afterhyperpolarization current in hippocampal pyramidal neurons: implications for the integration of long-term potentiation. *J Neurosci* 16:4537-4542.

- Sanchez-Andres JV, Alkon DL (1991) Voltage-clamp analysis of the effects of classical conditioning on the hippocampus. *J Neurophysiol* 65:796-807.
- Sandrock AW, Jr., Dryer SE, Rosen KM, Gozani SN, Kramer R, Theill LE, Fischbach GD (1997) Maintenance of acetylcholine receptor number by neuregulins at the neuromuscular junction in vivo. *Science* 276:599-603.
- Santoro B, Grant SG, Bartsch D, Kandel ER (1997) Interactive cloning with the SH3 domain of N-src identifies a new brain specific ion channel protein, with homology to eag and cyclic nucleotide-gated channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:14815-14820.
- Santoro B, Liu DT, Yao H, Bartsch D, Kandel ER, Siegelbaum SA, Tibbs GR (1998) Identification of a gene encoding a hyperpolarization-activated pacemaker channel of brain. *Cell* 93:717-729.
- Santoro B, Wainger BJ, Siegelbaum SA (2004) Regulation of HCN channel surface expression by a novel C-terminal protein-protein interaction. *J Neurosci* 24:10750-10762.
- Sastry BR, Goh JW, Auyeung A (1986) Associative induction of posttetanic and long-term potentiation in CA1 neurons of rat hippocampus. *Science* 232:988-990.
- Satoh TO, Yamada M (2002) Multiple inhibitory effects of zatebradine (UL-FS 49) on the electrophysiological properties of retinal rod photoreceptors. *Pflugers Arch* 443:532-540.
- Sayer RJ, Friedlander MJ, Redman SJ (1990) The time course and amplitude of EPSPs evoked at synapses between pairs of CA3/CA1 neurons in the hippocampal slice. *J Neurosci* 10:826-836.
- Schoepp DD, Jane DE, Monn JA (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38:1431-1476.
- Schrader LA, Anderson AE, Varga AW, Levy M, Sweatt JD (2002) The other half of Hebb: K⁺ channels and the regulation of neuronal excitability in the hippocampus. *Mol Neurobiol* 25:51-66.
- Schreurs BG, Gusev PA, Tomsic D, Alkon DL, Shi T (1998) Intracellular correlates of acquisition and long-term memory of classical conditioning in Purkinje cell dendrites in slices of rabbit cerebellar lobule HVI. *J Neurosci* 18:5498-5507.
- Schreurs BG, Tomsic D, Gusev PA, Alkon DL (1997) Dendritic excitability microzones and occluded long-term depression after classical conditioning of the rabbit's nictitating membrane response. *J Neurophysiol* 77:86-92.
- Schulz DJ (2006) Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability: it's what's inside that counts. *J Exp Biol* 209:4821-4827.
- Schulz DJ, Goaillard JM, Marder E (2006) Variable channel expression in identified single and electrically coupled neurons in different animals. *Nat Neurosci* 9:356-362.
- Schulz DJ, Goaillard JM, Marder EE (2007) Quantitative expression profiling of identified neurons reveals cell-specific constraints on highly variable levels of gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:13187-13191.
- Schwartzkroin PA, Wester K (1975) Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice. *Brain Res* 89:107-119.
- Schwindt PC, Crill WE (1995) Amplification of synaptic current by persistent sodium conductance in apical dendrite of neocortical neurons. *J Neurophysiol* 74:2220-2224.
- Schwindt PC, Crill WE (1997) Modification of current transmitted from apical dendrite to soma by blockade of voltage- and Ca²⁺-dependent conductances in rat neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 78:187-198.
- Segal MM, Douglas AF (1997) Late sodium channel openings underlying epileptiform activity are preferentially diminished by the anticonvulsant phenytoin. *J Neurophysiol* 77:3021-3034.
- Seroussi Y, Brosh I, Barkai E (2002) Learning-induced reduction in post-burst after-hyperpolarization (AHP) is mediated by activation of PKC. *Eur J Neurosci* 16:965-969.
- Shah MM, Anderson AE, Leung V, Lin X, Johnston D (2004) Seizure-induced plasticity of h channels in entorhinal cortical layer III pyramidal neurons. *Neuron* 44:495-508.
- Shigemoto R, Kinoshita A, Wada E, Nomura S, Ohishi H, Takada M, Flor PJ, Neki A, Abe T, Nakanishi S, Mizuno N (1997) Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J Neurosci* 17:7503-7522.
- Shin KS, Rothberg BS, Yellen G (2001) Blocker state dependence and trapping in hyperpolarization-activated cation channels: evidence for an intracellular activation gate. *J Gen Physiol* 117:91-101.

- Shin M, Chetkovich DM (2007) Activity-dependent Regulation of h Channel Distribution in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *J Biol Chem* 282:33168-33180.
- Shu Y, Yu Y, Yang J, McCormick DA (2007) Selective control of cortical axonal spikes by a slowly inactivating K⁺ current. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:11453-11458.
- Sivilotti L, Nistri A (1991) GABA receptor mechanisms in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 36:35-92.
- Sjostrom PJ, Hausser M (2006) A cooperative switch determines the sign of synaptic plasticity in distal dendrites of neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 51:227-238.
- Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2007) Multiple forms of long-term plasticity at unitary neocortical layer 5 synapses. *Neuropharmacology* 52:176-184.
- Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB (2003) Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 39:641-654.
- Smart FM, Halpain S (2000) Regulation of dendritic spine stability. *Hippocampus* 10:542-554.
- Smith MA, Ellis-Davies GC, Magee JC (2003) Mechanism of the distance-dependent scaling of Schaffer collateral synapses in rat CA1 pyramidal neurons. *J Physiol* 548:245-258.
- Sochivko D, Pereverzev A, Smyth N, Gissel C, Schneider T, Beck H (2002) The Ca(V)2.3 Ca(2⁺) channel subunit contributes to R-type Ca(2⁺) currents in murine hippocampal and neocortical neurones. *J Physiol* 542:699-710.
- Soleng AF, Chiu K, Raastad M (2003) Unmyelinated axons in the rat hippocampus hyperpolarize and activate an H current when spike frequency exceeds 1 Hz. *J Physiol* 552:459-470.
- Somogyi P, Klausberger T (2005) Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol* 562:9-26.
- Sourdet V, Debanne D (1999) The role of dendritic filtering in associative long-term synaptic plasticity. *Learn Mem* 6:422-447.
- Sourdet V, Russier M, Daoudal G, Ankri N, Debanne D (2003) Long-term enhancement of neuronal excitability and temporal fidelity mediated by metabotropic glutamate receptor subtype 5. *J Neurosci* 23:10238-10248.
- Southan AP, Morris NP, Stephens GJ, Robertson B (2000) Hyperpolarization-activated currents in presynaptic terminals of mouse cerebellar basket cells. *J Physiol* 526 Pt 1:91-97.
- Spitzer NC (1999) New dimensions of neuronal plasticity. *Nat Neurosci* 2:489-491.
- Spruston N, Jaffe DB, Johnston D (1994) Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties. *Trends Neurosci* 17:161-166.
- Spruston N, Johnston D (1992) Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 67:508-529.
- Spruston N, Schiller Y, Stuart G, Sakmann B (1995) Activity-dependent action potential invasion and calcium influx into hippocampal CA1 dendrites. *Science* 268:297-300.
- Stackman RW, Hammond RS, Linardatos E, Gerlach A, Maylie J, Adelman JP, Tzounopoulos T (2002) Small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels modulate synaptic plasticity and memory encoding. *J Neurosci* 22:10163-10171.
- Staff NP, Jung HY, Thiagarajan T, Yao M, Spruston N (2000) Resting and active properties of pyramidal neurons in subiculum and CA1 of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 84:2398-2408.
- Staff NP, Spruston N (2003) Intracellular correlate of EPSP-spike potentiation in CA1 pyramidal neurons is controlled by GABAergic modulation. *Hippocampus* 13:801-805.
- Stafstrom CE, Schwindt PC, Chubb MC, Crill WE (1985) Properties of persistent sodium conductance and calcium conductance of layer V neurons from cat sensorimotor cortex in vitro. *J Neurophysiol* 53:153-170.
- Stafstrom CE, Schwindt PC, Flatman JA, Crill WE (1984) Properties of subthreshold response and action potential recorded in layer V neurons from cat sensorimotor cortex in vitro. *J Neurophysiol* 52:244-263.
- Storm JF (1987) Action potential repolarization and a fast after-hyperpolarization in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 385:733-759.
- Storm JF (1990) Potassium currents in hippocampal pyramidal cells. *Prog Brain Res* 83:161-187.

- Strauss U, Kole MH, Brauer AU, Pahnke J, Bajorat R, Rolfs A, Nitsch R, Deisz RA (2004) An impaired neocortical Ih is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur J Neurosci* 19:3048-3058.
- Stuart G (1999) Voltage-activated sodium channels amplify inhibition in neocortical pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 2:144-150.
- Stuart G, Hausser M (1994) Initiation and spread of sodium action potentials in cerebellar Purkinje cells. *Neuron* 13:703-712.
- Stuart G, Sakmann B (1995) Amplification of EPSPs by axosomatic sodium channels in neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 15:1065-1076.
- Stuart G, Spruston N (1998) Determinants of voltage attenuation in neocortical pyramidal neuron dendrites. *J Neurosci* 18:3501-3510.
- Stuart G, Spruston N, Hausser M (2007) Dendritic voltage-gated ion channels. In: *Dendrites* pp 225-250. Oxford University Press.
- Stuart G, Spruston N, Sakmann B, Hausser M (1997) Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS. *Trends Neurosci* 20:125-131.
- Stuart GJ, Sakmann B (1994) Active propagation of somatic action potentials into neocortical pyramidal cell dendrites. *Nature* 367:69-72.
- Surmeier DJ, Foehring R (2004) A mechanism for homeostatic plasticity. *Nat Neurosci* 7:691-692.

T

- Tamaru Y, Nomura S, Mizuno N, Shigemoto R (2001) Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR3 in the mouse CNS: differential location relative to pre- and postsynaptic sites. *Neuroscience* 106:481-503.
- Taube JS, Schwartzkroin PA (1988) Mechanisms of long-term potentiation: EPSP/spike dissociation, intradendritic recordings, and glutamate sensitivity. *J Neurosci* 8:1632-1644.
- Teyler TJ, DiScenna P (1987) Long-term potentiation. *Annu Rev Neurosci* 10:131-161.
- Thoby-Brisson M, Telgkamp P, Ramirez JM (2000) The role of the hyperpolarization-activated current in modulating rhythmic activity in the isolated respiratory network of mice. *J Neurosci* 20:2994-3005.
- Thoby-Brisson M, Cauli B, Champagnat J, Fortin G, Katz DM (2003) Expression of functional tyrosine kinase B receptors by rhythmically active respiratory neurons in the pre-Botzinger complex of neonatal mice. *J Neurosci* 23:7685-7689.
- Thompson LT, Moyer JR, Jr., Disterhoft JF (1996) Transient changes in excitability of rabbit CA3 neurons with a time course appropriate to support memory consolidation. *J Neurophysiol* 76:1836-1849.
- Thurbon D, Field A, Redman S (1994) Electrotonic profiles of interneurons in stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 71:1948-1958.
- Tomasulo RA, Ramirez JJ (1993) Activity-mediated changes in feed-forward inhibition in the dentate commissural pathway: relationship to EPSP/spike dissociation in the converging perforant path. *J Neurophysiol* 69:165-173.
- Toni N, Buchs PA, Nikonenko I, Bron CR, Muller D (1999) LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402:421-425.
- Toni N, Buchs PA, Nikonenko I, Povilaitite P, Parisi L, Muller D (2001) Remodeling of synaptic membranes after induction of long-term potentiation. *J Neurosci* 21:6245-6251.
- Tottene A, Volsen S, Pietrobon D (2000) $\alpha(1E)$ subunits form the pore of three cerebellar R-type calcium channels with different pharmacological and permeation properties. *J Neurosci* 20:171-178.
- Trimmer JS, Rhodes KJ (2004) Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu Rev Physiol* 66:477-519.
- Tsubokawa H, Offermanns S, Simon M, Kano M (2000) Calcium-dependent persistent facilitation of spike backpropagation in the CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 20:4878-4884.
- Tsubokawa H, Ross WN (1997) Muscarinic modulation of spike backpropagation in the apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 17:5782-5791.
- Turner RW, Meyers DE, Richardson TL, Barker JL (1991) The site for initiation of action potential discharge over the somatodendritic axis of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 11:2270-2280.

Turrigiano GG (1999) Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same. *Trends Neurosci* 22:221-227.

Turrigiano GG (2000) AMPA receptors unbound: membrane cycling and synaptic plasticity. *Neuron* 26:5-8.

Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5:97-107.

Tzounopoulos T, Rubio ME, Keen JE, Trussell LO (2007) Coactivation of pre- and postsynaptic signaling mechanisms determines cell-specific spike-timing-dependent plasticity. *Neuron* 54:291-301.

U-V

Urban NN, Henze DA, Barrionuevo G (1998) Amplification of perforant-path EPSPs in CA3 pyramidal cells by LVA calcium and sodium channels. *J Neurophysiol* 80:1558-1561.

van Hooft JA, Giuffrida R, Blatow M, Monyer H (2000) Differential expression of group I metabotropic glutamate receptors in functionally distinct hippocampal interneurons. *J Neurosci* 20:3544-3551.

van Welie I, van Hooft JA, Wadman WJ (2004) Homeostatic scaling of neuronal excitability by synaptic modulation of somatic hyperpolarization-activated Ih channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:5123-5128.

van Welie I, Wadman WJ, van Hooft JA (2005) Low affinity block of native and cloned hyperpolarization-activated Ih channels by Ba²⁺ ions. *Eur J Pharmacol* 507:15-20.

Varga AW, Yuan LL, Anderson AE, Schrader LA, Wu GY, Gatchel JR, Johnston D, Sweatt JD (2004) Calcium-calmodulin-dependent kinase II modulates Kv4.2 channel expression and upregulates neuronal A-type potassium currents. *J Neurosci* 24:3643-3654.

Vasilyev DV, Barish ME (2004) Regulation of the hyperpolarization-activated cationic current Ih in mouse hippocampal pyramidal neurones by vitronectin, a component of extracellular matrix. *J Physiol* 560:659-675.

W

Wainger BJ, DeGennaro M, Santoro B, Siegelbaum SA, Tibbs GR (2001) Molecular mechanism of cAMP modulation of HCN pacemaker channels. *Nature* 411:805-810.

Wang C, Wilson WA, Moore SD (2001) Role of NMDA, non-NMDA, and GABA receptors in signal propagation in the amygdala formation. *J Neurophysiol* 86:1422-1429.

Wang HG, Lu FM, Jin I, Udo H, Kandel ER, de VJ, Walter U, Lohmann SM, Hawkins RD, Antonova I (2005) Presynaptic and postsynaptic roles of NO, cGK, and RhoA in long-lasting potentiation and aggregation of synaptic proteins. *Neuron* 45:389-403.

Wang Y, Rowan MJ, Anwyl R (1997) Induction of LTD in the dentate gyrus in vitro is NMDA receptor independent, but dependent on Ca²⁺ influx via low-voltage-activated Ca²⁺ channels and release of Ca²⁺ from intracellular stores. *J Neurophysiol* 77:812-825.

Wang Y, Wu J, Rowan MJ, Anwyl R (1996) Ryanodine produces a low frequency stimulation-induced NMDA receptor-independent long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vitro. *J Physiol* 495 (Pt 3):755-767.

Wang Z, Xu NL, Wu CP, Duan S, Poo MM (2003) Bidirectional changes in spatial dendritic integration accompanying long-term synaptic modifications. *Neuron* 37:463-472.

Wathey JC, Lytton WW, Jester JM, Sejnowski TJ (1992) Computer simulations of EPSP-spike (E-S) potentiation in hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurosci* 12:607-618.

Welsby PJ, Wang H, Wolfe JT, Colbran RJ, Johnson ML, Barrett PQ (2003) A mechanism for the direct regulation of T-type calcium channels by Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II. *J Neurosci* 23:10116-10121.

Williams SR, Christensen SR, Stuart GJ, Hausser M (2002) Membrane potential bistability is controlled by the hyperpolarization-activated current I(H) in rat cerebellar Purkinje neurons in vitro. *J Physiol* 539:469-483.

Williams SR, Stuart GJ (2000a) Action potential backpropagation and somato-dendritic distribution of ion channels in thalamocortical neurons. *J Neurosci* 20:1307-1317.

Williams SR, Stuart GJ (2003) Voltage- and site-dependent control of the somatic impact of dendritic IPSPs. *J Neurosci* 23:7358-7367.

Williams SR, Stuart GJ (2000b) Site independence of EPSP time course is mediated by dendritic I(h) in neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 83:3177-3182.

Winder DG, Sweatt JD (2001) Roles of serine/threonine phosphatases in hippocampal synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2:461-474.

Womack MD, Khodakhah K (2004) Dendritic control of spontaneous bursting in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 24:3511-3521.

Woodin MA, Ganguly K, Poo MM (2003) Coincident pre- and postsynaptic activity modifies GABAergic synapses by postsynaptic changes in Cl⁻ transporter activity. *Neuron* 39:807-820.

X-Y-Z

Xu J, Kang N, Jiang L, Nedergaard M, Kang J (2005) Activity-dependent long-term potentiation of intrinsic excitability in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 25:1750-1760.

Yang SN, Tang YG, Zucker RS (1999) Selective induction of LTP and LTD by postsynaptic [Ca²⁺]_i elevation. *J Neurophysiol* 81:781-787.

Yasuda R, Sabatini BL, Svoboda K (2003) Plasticity of calcium channels in dendritic spines. *Nat Neurosci* 6:948-955.

Yasui T, Fujisawa S, Tsukamoto M, Matsuki N, Ikegaya Y (2005) Dynamic synapses as archives of synaptic history: state-dependent redistribution of synaptic efficacy in the rat hippocampal CA1. *J Physiol* 566:143-160.

Yuan LL, Adams JP, Swank M, Sweatt JD, Johnston D (2002) Protein kinase modulation of dendritic K⁺ channels in hippocampus involves a mitogen-activated protein kinase pathway. *J Neurosci* 22:4860-4868.

Yuste R (1997) Potassium channels. Dendritic shock absorbers. *Nature* 387:851, 853.

Zalutsky RA, Nicoll RA (1990) Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science* 248:1619-1624.

Zhang K, Peng BW, Sanchez RM (2006) Decreased IH in hippocampal area CA1 pyramidal neurons after perinatal seizure-inducing hypoxia. *Epilepsia* 47:1023-1028.

Zhang LI, Tao HW, Holt CE, Harris WA, Poo M (1998) A critical window for cooperation and competition among developing retinotectal synapses. *Nature* 395:37-44.

Zhang W, Linden DJ (2003) The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* 4:885-900.

Zhou Q, Homma KJ, Poo MM (2004) Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron* 44:749-757.

Zolles G, Klocker N, Wenzel D, Weisser-Thomas J, Fleischmann BK, Roeper J, Fakler B (2006) Pacemaking by HCN channels requires interaction with phosphoinositides. *Neuron* 52:1027-1036.

Zong X, Eckert C, Yuan H, Wahl-Schott C, Abicht H, Fang L, Li R, Mistrik P, Gerstner A, Much B, Baumann L, Michalakakis S, Zeng R, Chen Z, Biel M (2005) A novel mechanism of modulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels by Src kinase. *J Biol Chem* 280:34224-34232.

Zucker RS, Regehr WG (2002) Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355-405.

6. ANNEXE

Hyperpolarization-activated cationic current (I_h) organizes temporal activity in cortical circuits *in vitro*

Philippe Gastrein^{1,2*}, Émilie Campanac^{1,2*}, Robert Cudmore^{1,2}, Norbert Ankri^{1,2} & Dominique Debanne^{o1,2}

¹INSERM U641, Marseille, F-13916 France

²Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine secteur nord, IFR 11, Marseille, F-13916 France

**Equal contribution to the work*

To whom correspondence should be addressed,

Tel: (+33) 4 91 69 87 45

Fax: (+ 33) 4 91 09 05 06

E-mail: dominique.debanne@univmed.fr

9 figures, 2 supplementary figures
32 pages

Key words: theta oscillation, synchronization, temporal precision, EPSP-spike

Hyperpolarization-activated nucleotide cyclic-modulated current (I_h) is widely expressed in cortical neurons such as pyramidal cells and inhibitory interneurons. In pyramidal neurons I_h sets their resonance frequency within the θ -range (5-12 Hz). However, its contribution in the temporal organization of neuronal activity remains unclear. We show that pharmacological blockade of I_h with external cesium or ZD-7288 reduces the coherence of carbachol-induced θ -like oscillations in the rat hippocampus and visual neocortex *in vitro*. The role of I_h was analyzed in 4 critical neuronal operations occurring during hippocampal network activity with both pharmacological tools and the dynamic-clamp technique. We show here that blockade of I_h 1) decreased the precision of the EPSP-spike and 2) IPSP-spike coupling in pyramidal neurons, 3) reduced intrinsic resonance and 4) regularity of firing in *stratum oriens* interneurons (OI). The effects of I_h on synaptic potentials and after-hyperpolarization (AHP) were analyzed with both pharmacological tools and dynamic-clamp of h-conductance. I_h contributes to the temporal organization of network activity via two main mechanisms: acceleration of voltage trajectories during the decay of AHPs (pacemaker activity in OIs) and IPSPs (IPSP-spike coupling), and reduction of EPSP duration during EPSP-spike coupling. We conclude that I_h promotes the regularity of cortical oscillations by acting on temporal precision of synaptic potential to spike coupling, intrinsic resonance and pacemaker activity.

Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN or h) channels are widely expressed in cortical neurons including pyramidal cells (Maccaferri *et al.*, 1993; Magee, 1998) and GABAergic interneurons (Maccaferri & McBain, 1996; Rateau & Ropert, 2006; Aponte *et al.*, 2006). Their biophysical properties and subcellular localization in the dendrites (Magee, 1998; Lörincz *et al.*, 2001) and the axon (Aponte *et al.*, 2006) makes them privileged actors in controlling information processing in the brain. H-channels sharpen EPSPs (Magee, 1998) and IPSPs (van Brederode & Spain, 1995) as a result of I_h deactivation and activation, respectively.

Although the contribution of h-channels in pacemaker activity has been demonstrated in cardiac and thalamic cells (review in Robinson & Siegelbaum 2003), the precise role of h-channels in determining the temporal organization of network activity remains poorly understood. Theoretical studies suggest that h-channels may control θ rhythmic activity in hippocampal networks (Rotstein *et al.*, 2005; Orban *et al.*, 2006) but the experimental demonstration of the importance of h-channels in hippocampal rhythms remains unclear and controversial (Magee, 2001; Kitayama *et al.*, 2002; Nolan *et al.*, 2004). For instance, pharmacological blockade of h-channels with 100 μ M ZD-7288 disorganizes θ activity *in vitro* (Cobb *et al.*, 2003). But the loss of oscillation here was probably simply due to the non-specific reduction of synaptic transmission by ZD-7288 (Chevalleyre & Castillo, 2002). In the developing hippocampus, giant-depolarizing potentials (GDPs) are disrupted by ZD-7288 (Bender *et al.*, 2005). However, in the cortex, h-channel blockers do not affect the frequency of cortical oscillations produced by partial disinhibition (Castro-Alamancos *et al.*, 2007). In addition, the precise

contribution of h-channel in the integration of excitatory and inhibitory synaptic potentials remains largely puzzling. The role of h-channels in the resonance of the membrane potential at θ -like frequency (range 3-12 Hz) has been demonstrated in CA1 (Hu *et al.*, 2002) and L5 (Ulrich, 2002) pyramidal cells, but one still ignore whether I_h also sets the θ resonance in GABAergic interneurons, a cell type that plays a critical role in θ oscillations (Maccaferri & McBain, 1996; Chapman & Lacaille 1998; Pike *et al.*, 2000). Finally, the precise role of I_h in the functional coupling between synaptic potentials and action potentials remains unknown.

We examined here the role of I_h in carbachol-induced θ -like oscillations in the hippocampus and visual neocortex *in vitro*. Pharmacological blockade of I_h with external cesium or ZD-7288 reduced the coherence of θ -like oscillations and strongly altered 4 important neuronal operations that are likely to occur during network activity at θ frequency. Our data indicate that pharmacological blockade of I_h 1) decreased the precision of the EPSP-spike and 2) IPSP-spike coupling in pyramidal neurons, 3) reduced the intrinsic resonance at θ frequencies in pyramidal cells and interneurons, and 4) reduced the regularity of firing in GABAergic interneurons as a result of the decrease of the AHP repolarization rate. Our results indicate that EPSP-spike coupling was temporally precise because I_h reduced EPSP duration whereas IPSP-spike coupling was reliable because I_h accelerated the rate of membrane repolarization after each IPSP. We conclude that I_h promotes the regularity of network oscillations by acting on intrinsic resonance, spiking fidelity and precision of synapse-spike coupling.

METHODS

Slice preparation and electrophysiology

The methods used to prepare hippocampal and cortical slices have been detailed previously (Daoudal *et al.* 2002, Sourdet *et al.* 2003). Cortical and hippocampal slices (350-400 μm) were obtained from 15- to 20-day-old rats. All experiments were carried out according to the European and Institutional guidelines for the care and use of laboratory animals (Council Directive 86/609/EEC and French National Research Council). Briefly, rats were deeply anaesthetized with chloral hydrate (intraperitoneal, 200 mg kg⁻¹) and killed by decapitation. Slices were cut in a solution containing: (in mM) sucrose, 280; NaHCO₃, 26; D-glucose, 10; KCl, 1.3; CaCl₂, 1; MgCl₂, 10, and were bubbled with 95% O₂ - 5% CO₂, pH 7.4. The slices were maintained for one hour at room temperature in oxygenated (95% O₂/5% CO₂) artificial cerebrospinal fluid (ACSF; in mM: NaCl, 125; KCl, 2.5; NaH₂PO₄, 0.8; NaHCO₃, 26; CaCl₂, 3; MgCl₂, 2; D-Glucose, 10). Each slice was transferred to a temperature-controlled (29°C) recording chamber with oxygenated ACSF. Neurons were visualized in DIC infrared (IR)-videomicroscopy for patch experiments. For whole-cell recordings from cortical L5 and CA1 pyramidal neuron, the electrodes were filled with an internal solution containing (in mM): K-gluconate 120; KCl 20; HEPES 10; EGTA 0.5; MgCl₂·6H₂O 2; Na₂ATP 2.

EPSP-spike coupling was investigated in CA1 pyramidal cells in the presence of the GABA_A receptor blocker picrotoxin (PiTX, 100 μ M). In these conditions, the CA3 area was surgically isolated from the CA1 area in order to avoid spontaneous burst discharge. IPSP-spike coupling was investigated in the presence of kynurenate (2 mM) in order to evoke monosynaptic IPSPs with electrical stimulation in the cell-body layer. To record hyperpolarizing GABA_A receptor mediated PSPs the intrapipette chloride concentration was reduced to 2 mM (K-Gluconate 150 mM, HEPES 10 mM, EGTA 0.5 mM, MgCl 2 mM, Na₂ATP 2 mM, NaGTP 0.3 mM, 10 mM phosphocreatine).

Field-potentials were recorded in the *stratum pyramidale* using glass microelectrodes filled with 3M NaCl. Glass stimulating electrodes filled with extracellular saline were placed in the *stratum radiatum*.

Drugs were bath applied. PiTX, kynurenate and bicuculline methiodide were purchased from Sigma and ZD-7288 from Tocris-Cookson. In order to avoid non specific presynaptic effect, ZD-7288 was applied at 1 μ M (Chevaleyre & Castillo, 2002). With this concentration, no reduction in synaptic strength was observed. All recordings were made at 29°C (except for experiments in neocortical slices, 32°C).

Data acquisition and analysis

Electrophysiological recordings were obtained using an Axoclamp-2B or an Axopatch-200B amplifier, Acquis1 software (Bio-Logic, Orsay, France) or pClamp (Axon Instruments) version 8 or 9. Data were analysed with IGOR version 5.03 (WaveMetrics, Lake Oswego, OR) or a home-made software (PERL, written in Linux). Pooled data are presented as mean \pm SE and statistical analysis was performed using the Mann-Whitney *U*-test.

Auto- and cross-correlation functions were calculated from the membrane potential recordings with a PERL programmed script and then normalized. To quantify the coherence and amplitude of the oscillation, we used the method described in Bringuier and coworkers (1997). Briefly, voltage recordings were filtered to remove signals faster than 10 mV/ms. Autocorrelation function was computed and optima in the autocorrelogram were detected with a PERL routine (red dots in **Supplementary Fig.1A**). An evaluation of the period of oscillation is given by the intervals between maxima and minima (I_1 to I_6 , **Supplementary Fig. 1A**). The coefficient of oscillation (C_o) was determined as the ratio of standard deviation over the mean to quantify the temporal coherence of the oscillation. The amplitude of oscillation (A_o) was determined by the amplitude between the first minimum and the average of the first two maxima (**Supplementary Fig. 1B**).

Recording and analysis of electrical resonance

The impedance amplitude profile (ZAP) method was used to characterize the electrical resonance of interneurons (Pape & Driesang, 1998; Hutcheon & Yarom, 2000; Hu *et al.*, 2002). Briefly, a sinusoidal current with constant amplitude and linearly increasing frequency (0-10 Hz for 30 sec) was injected in

the recorded electrode and the voltage response was recorded. Resonance was signaled by a distinct peak in the voltage response. The cell impedance as a function of frequency was given by the ratio of the fast-Fourier transform (FFT) of the voltage response to the magnitude of the FFT of the input current.

Model of the *h*-conductance (*G_h*)

Biophysical characterization of *I_h* in CA1 pyramidal neurons and oriens interneurons was assessed in the presence of TTX (500 nM), PiTX (100 μM), kynureate (2 mM), Ni²⁺ (200 μM), TEA (5 mM) and 4-AP (100 μM). To block *h*-channels, a high concentration of ZD-7288 (50-100 μM) was applied. Subtraction of control records from those obtained after ZD-7288 application allowed isolation of *h*-currents. Activation was assessed by voltage steps from a holding potential of -50 mV to -60/-120 mV. Deactivation was analyzed in tail-currents evoked by stepping from -75 mV to -70/-45 mV. All current traces evoked were fitted with mono-exponential functions. Activation and deactivation time constants were averaged and plotted. Reversal potential (*E_h*) was determined by linear extrapolation of the tail-current amplitude. In CA1 pyramidal neurons *E_h* was -37.7 ± 0.9 mV (*n* = 3).

Equations describing the voltage-dependence of *G_h* were based on a deterministic Hodgkin-Huxley model with 1 variable (*n*, the gating particle for activation) which obeys first order kinetics. The *h*-current was given by: $I_h = G_h(V_m - E_h)$, with *V_m*, the membrane potential, *E_h* = -37.7 mV for CA1 pyramidal neurons, and the *h*-conductance $G_h = G_{hmax}n$. The activation and deactivation time constants were determined by fitting experimental data (see above).

The differential equation $dn(V, t) / dt = \alpha(V) [1 - n(V, t)] - \beta(V) n(V, t)$ was solved. This equation corresponds to $d(V, t) / dt = [n_{\infty}(V) - n(V, t)] / \tau(V)$ with the steady-state activation parameter as $n_{\infty}(V) = \alpha_n(V) / [\alpha_n(V) + \beta_n(V)]$, and the activation time constant $\tau(V) = 1$ for *V* > -30 mV otherwise $\tau(V) = 1 / [\alpha_n(V) + \beta_n(V)]$ with

$$\alpha_n = 0.0204 / 1 + \exp[(V + 98.68) / 13.24]$$

$$\beta_n = 0.0176 / 1 + \exp[-(V + 57.96) / 13.2] \text{ for CA1 pyramidal neurons}$$

Dynamic Clamp.

To add an artificial *I_h* conductance in CA1 pyramidal neurons or in *stratum oriens* interneurons, a fast dynamic-clamp system was developed (Sharp et al., 1993; Prinz et al., 2004; Carlier et al., 2006; Campanac et al., submitted). The system consisted of an embedded processor with real-time operating system which was programmed and controlled from a host PC computer with the graphical language LabView 7-Express containing the LabView Real-Time module. The feedback loop (*F* = 38 kHz) continuously read the membrane potential *V_m* from the Axoclamp-2B, computed *G_h* and generated an output, *I_h* according to the equation: $I_h = G_h(V_m - E_h)$. A reconfigurable I/O module (NI PXI-7831R) allowed monitoring of *V_m* and generation of *I_h*. The access speed of analog-digital and digital-

analog conversions on the input/output module was optimized by a field-programmable gate array (FPGA).

To minimize calculations during the calculation loop, specific arrays of $\tau(V)$ and $n_\infty(V)$ were initialized with a resolution of 0.1 mV. For a given voltage, corresponding values of $\tau(V)$ and $n_\infty(V)$ were obtained by linear interpolation from the array. The numerical integration based on Euler's method, involved a simple linear extrapolation of the gating variable given by the equation:

$$n_{k+1} = n_k + (n_\infty - n_k) dt$$

An Axoclamp2B amplifier (Axon Instruments) was used for dynamic-clamp experiments and the bridge balance was monitored continuously to minimize series resistance artifacts. Only recordings with series resistance $<25 \text{ M}\Omega$ were kept for further analysis.

The models were validated with addition and subtraction of the h-conductance (Campanac et al., submitted). Families of voltage traces evoked by depolarizing and hyperpolarizing pulses of current (+50/-50 pA) were recorded in controls. In the presence of 5 mM Cs^+ in the external saline the input resistance increased and the depolarizing sag was suppressed. The addition of the simulated h-conductance with the dynamic clamp (range: 5-7 nS, $n = 3$) decreased the input resistance and restored the sag (see Campanac et al., submitted). In fact, voltage signals recorded in these conditions ($\text{Cs}^+ + I_h \text{ Dyn}$) were virtually identical to the control traces. An external digital device (microcontroller PIC-16F876A (Microchip®)) was used to facilitate the adjustment of the values of G_h during the experiment. Thus, digitized values of this variable were directly read in real time by the I/O module.

RESULTS

Blockade of I_h disturbs cortical 3-12 Hz oscillations

We first examined whether h-channels contribute to the organization of rhythmic activity in the hippocampus *in vitro*. Network activity was measured in the area CA3 with an extracellular electrode whereas intracellular activity was monitored in a CA1 pyramidal neuron. As previously reported (Konopacki et al., 1987; Cobb et al., 2003), 50 μM carbachol depolarized the neuron, increased spontaneous synaptic activity and systematically induced robust and non decrementing θ -like oscillations in the CA1 pyramidal neuron and in the CA3 field potential (**Fig. 1A**). In contrast, in the presence of Cs^+ (2.5 mM) or ZD-7288 (1 μM), carbachol either failed to induce θ -like oscillations in parent hippocampal slices or produced in the best cases decrementing and irregular oscillations (**Fig. 1B**). In the presence of h-channel blockers, the temporal coherence of the oscillation in the cross-correlation between the intracellular and extracellular recordings decreased (C_o increased from 0.014 ± 0.011 , $n = 4$ in control to 0.0383 ± 0.014 , $n = 4$ in the presence of h-channel blocker, Mann-Whitney test, $p < 0.05$) and the amplitude of the oscillation decreased (the amplitude of oscillation A_o dropped from 1.73 ± 0.07 , $n = 4$ in control to 1.00 ± 0.45 , $n = 4$, Mann-Whitney, $p < 0.05$). Thus, h-channels set

the coherence of hippocampal oscillations in the θ band. Similar observations were made in spontaneous or evoked θ -like cortical oscillations (3-12 Hz) were induced by activation of muscarinic receptors with carbachol (100 μ M) in slices of rat visual cortex disinhibited with the GABA_A receptor antagonist bicuculline (10 μ M) (Lukatch & McIver, 1997). Spontaneous θ -like episodes of 3-10 s (mean: 5.9 ± 2.6 s, $n = 7$ slices) recorded in field potential in layers 4/5 appeared within 5-20 minutes of carbachol application. The frequency of spontaneous θ -like episodes was 9.2 ± 2.0 Hz ($n = 7$ slices). Simultaneous field potential and whole-cell recordings from an adjacent L5 pyramidal neuron showed that field oscillations were correlated with sub- and suprathreshold θ -like activity (**Suppl. Fig. 2A**, left). In contrast with a previous report (Cobb *et al.*, 2003), network activity was not totally abolished in the presence of 1 μ M ZD-7288. Rather, blockade of I_h with ZD-7288 (1 μ M) increased the duration of the spontaneous θ -like episodes (5.9 ± 2.6 s in control and 7.2 ± 3 s, $n = 7$ in the presence of ZD-7288, $p < 0.05$ Mann-Whitney test), suggesting that at this concentration, ZD-7288 does not block synaptic transmission (Chevalleyre & Castillo, 2002) and did not produce a functionally important hyperpolarization of the membrane potential (Gasparini & Di Francesco, 1997). But most importantly h-channel blockers disorganized the temporal coherence of spontaneous θ -like oscillations (**Suppl. Fig. 2A**). Similar changes were observed when θ -like oscillations were evoked by electrical stimulation of the layer II-III (**Suppl. Fig. 2B**). Therefore, data from spontaneous and evoked θ -like oscillations were pooled together. The temporal coherence of the oscillation was decreased in the presence of ZD-7288 (the coefficient of oscillation C_o increased from 0.08 ± 0.01 in control to 0.14 ± 0.02 in the presence of ZD-7288, Mann-Whitney U -test $p < 0.1$) and the amplitude of the oscillation was decreased (the amplitude of oscillation A_o dropped from 0.902 ± 0.047 in control to 0.722 ± 0.064 , $n = 5$ in the presence of ZD-7288, Mann-Whitney U -test $p < 0.05$; **Suppl. Fig. 2C**). The oscillation frequency remained, however, stable in the presence of h-channel blocker (9.8 ± 1.9 Hz in control vs. 9.3 ± 1.6 Hz, $n = 5$, Mann-Whitney test $p > 0.1$). In conclusion, h-channels participate to the temporal organization of hippocampal and neocortical network activity in the θ -frequency range.

Compared to the neocortex, synaptic circuits are relatively simple in the hippocampus and consensual mechanisms that convey hippocampal θ oscillations *in vitro* have been proposed (Buzsaki, 2002). Carbachol increases activity in interneurons and pyramidal neurons, and schematically θ rhythm is thought to result from 1) *patterning* of EPSP-induced spiking activity, 2) *synchronization* of pyramidal cell spiking by IPSPs (Cobb *et al.*, 1995; Reich *et al.* 2005), 3) *resonance* of subthreshold excitatory and inhibitory potentials (Hu & Storm 2002; Ulrich, 2002), and 4) *pacemaker* activity of hippocampal GABAergic interneurons (Gillies *et al.*, 2002; Rotstein *et al.*, 2005). In the rest of this study, we examined how h-channels control these 4 elementary neuronal operations.

H-channels determine the temporal precision of EPSP-spike coupling

During θ -like episodes, sub-threshold excitatory potentials occasionally evoke APs in pyramidal neurons (**Fig. 2A**, Cobb *et al.*, 2003). The coherence of activity can be determined if the temporal

pattern of the output of hippocampal pyramidal neurons is preserved. We therefore tested the effects of h-channel blockers on the EPSP-spike coupling in CA1 pyramidal neurons. In these experiments, the stimulus intensity was adjusted to produce a spike in about half of the trials and the shift in membrane potential induced by the h-channel blocker was compensated with constant holding current. In the presence of external Cs⁺ (2.5 mM; **Fig. 2B**) or ZD-7288 (1 μ M; **Fig. 2C**), the latency of the AP evoked by the EPSP was found to be more variable from trial to trial compared to control (SD in control: 5.3 ± 0.5 ms; SD in the presence of h-channel blocker: 18.0 ± 3.9 ms, $n = 15$, Wilcoxon-test, $p < 0.01$, **Fig. 2D**). The EPSP-spike precision was enhanced because the duration of subthreshold EPSP at nearly maximal depolarized potential was enhanced in the presence of h-channel blockers. In fact, the duration of the EPSP at 90% of its amplitude was significantly longer in the presence of h-channel blocker compared to the control (in control: 24 ± 1 ms, in the presence of h-channel blockers: 48 ± 4 ms; **Fig. 2E**). Interestingly, the normalized EPSP duration at 90% and the normalized SD were positively correlated ($R^2 = 0.84$, **Fig. 2F**), indicating that EPSP-spike precision tightly depends on the duration of the EPSP at the peak.

We next determined whether enhancement of I_h improve EPSP-spike precision. Since pharmacological activators of h-channels such as lamotrigine (Poolos et al., 2002) are not highly selective for these channels and also blocks Na⁺ and A-type K⁺ currents (Remy et al., 2003; Huang et al., 2004), we used the dynamic-clamp technique to add h-conductance (G_h). The addition of G_h (10 nS) reduced the apparent input resistance and increased the amplitude of the depolarizing sag (**Fig. 3A**). In these conditions the spike jitter was reduced (SD = 3.4 ± 0.4 ms in control and SD = 2.4 ± 0.5 ms when G_h was added, Wilcoxon, $p < 0.05$; **Fig. 3B & 3C**) and the duration of the EPSP at 90% of its amplitude was significantly reduced (15.9 ± 1.2 ms vs. 14.0 ± 1.1 ms; Wilcoxon $p < 0.05$, **Fig. 3D**). Thus, h-channels improve temporal precision of EPSP-spike coupling by reducing the temporal window during which an AP might be elicited.

We next analyzed how I_h was activated during an EPSP. CA1 pyramidal neurons were voltage clamped and the currents generated by an EPSP waveform (holding potential: -70 mV, amplitude 17-30 mV, sum of two exponentials with a rise-time of 10 ms and a decay-time of 50 ms) were recorded (**Fig. 4A**). The current sensitive to ZD-7288 was outward and temporally coincided with the decay of the EPSP (**Fig. 4B**). The rise-time of the ZD-7288-sensitive current evoked by a 30 mV EPSP waveform was 38 ± 4 ms ($n = 3$). Thus, the depolarization elicited by an EPSP deactivates h-channels and produces a fictive outward current that accelerates the rate of repolarization after the peak of the EPSP and reduce the time window during which an AP can be generated. Our data further support the rule governing the EPSP-spike precision where outward currents coinciding with the decay of the EPSP improve temporal spike precision (Fricker and Miles, 2000; Pouille and Scanziani; Axmacher & Miles, 2004).

In conclusion, h-channels improve the temporal precision of the EPSP-spike coupling because h-channels accelerate the decay of EPSPs and thus reduce the time during which an AP can be

triggered by the EPSP.

H-channels enhance the precision of IPSP-spike coupling in CA1 pyramidal neurons

Basket cells synchronize pyramidal cell firing through rebound excitation produced by IPSPs (Cobb *et al.*, 1995; Somogyi & Klausberger, 2005). In fact, IPSP-spike sequences were occasionally observed during CCh-induced θ -like oscillations (**Fig. 5A**). Synchronization between neurons receiving a common inhibitory input might be improved by h-channels because they accelerate the rate of membrane depolarization during the IPSP. We therefore examined whether the precision of IPSP-spike coupling was affected by h-channel blockers. CA1 pyramidal neurons were whole-cell recorded with a pipette solution containing a low concentration of chloride ions and monosynaptic IPSPs were evoked in the presence of 2 mM kynurenatate with a stimulating electrode located in the pyramidal cell layer to preferentially activate basket cells. The pyramidal neuron was held near -50 mV by injection of constant depolarizing current (range +10 / +30 pA) to produce spontaneous spike firing. As previously reported, rebound spikes were evoked by the IPSP in a narrow time-window (**Fig. 5B**). Bath application of external cesium (2.5 mM) or ZD-7288 totally disorganized rebound spiking. Fitting histograms of the first spikes with Gaussians revealed that the dispersion was significantly higher in the presence of external Cs⁺ or ZD-7288 (in control, $\sigma = 101 \pm 13$ ms; in the presence of h-channel blockers, $\sigma = 177 \pm 17$ ms, $n = 11$; Wilcoxon $p < 0.05$). The loss of temporal precision could be attributed to a change in the rate of membrane depolarization before spike generation (Sourdêt *et al.*, 2003). In fact, the IPSP decay slope was found to be reduced in the presence of cesium or ZD-7288 (39.9 ± 5.5 mV/s in control vs. 26.7 ± 2.8 mV/s in the presence of h-channel blocker, $n = 11$; Wilcoxon, $p < 0.05$; **Fig. 5C**). Thus, our results indicate that the shaping of the IPSP by h-channels allows temporally precise rebound firing through an acceleration of the rate of membrane depolarization before spike generation.

The improvement of the temporal precision of the IPSP-spike coupling by an IPSP could help synchronizing a population of pyramidal neurons that receive a common inhibitory input. In order to test this hypothesis, pairs of CA1 pyramidal neurons were recorded simultaneously and the temporal synchrony of spikes generated by an inhibitory input was analyzed before and after blocking I_h . In the presence of external cesium the time difference between spikes recorded in the two neurons expressed a larger jitter (SD: 170.2 ± 15 ms vs. 120.8 ± 13 ms in control, Wilcoxon-test $p < 0.02$; **Fig. 6**). Thus, I_h participates to the synchrony among CA1 pyramidal neurons by accelerating the IPSP-decay.

H-channels control the resonance frequency in oriens interneurons

H-channels set the resonance frequency in hippocampal (Hu *et al.*, 2002) and cortical pyramidal neurons (Ulrich, 2002) but it is not clear whether they control intrinsic membrane resonance in

inhibitory interneurons (Pike *et al.*, 2000). H-current is particularly prominent in interneurons from the *stratum oriens* (Maccaferri & McBain, 1996; Lupica *et al.*, 2001). A subpopulation of these cells is sensitive to muscarinic receptor stimulation (Lawrence *et al.*, 2006). We therefore examined whether h-channel activity determines the resonance frequency of the membrane potential in these interneurons. Eight interneurons with a horizontal fusiform cell body were recorded in the *stratum oriens* (**Fig. 7A**). Consistent with the behavior of *oriens* interneurons (Maccaferri & McBain, 1996), their action potentials were fast and displayed a deep after-hyperpolarization (AHP). In addition, a large depolarizing sag (arrow **Fig. 7A**) was elicited in response to the injection of hyperpolarizing pulses of current. We first studied the impact of the membrane potential on the resonance behavior of interneurons. The membrane potential was clamped manually at a potential ranging from -55 to -75 mV with the injection of a constant current. A sinusoidal (ZAP) current with constant amplitude but linearly increasing frequency was injected through the recording electrode (0-10 Hz during 30 s; **Fig. 7B**). In all cases, the amplitude of the oscillating current was adjusted to keep the voltage response below the action potential threshold. The resonance frequency was faster for hyperpolarized membrane potential (1.8 ± 0.3 Hz at -75 mV vs. 1.0 ± 0.0 Hz at -55 mV, $n = 8$; **Fig. 7B**). In contrast with the U-shape voltage-dependent resonance reported in CA1 pyramidal cells (Hu *et al.*, 2002), the dependence was linear in *oriens* interneurons (linear fit, $R^2=0.88$). To estimate the strength of the resonance we calculated the Q-value which is ratio of the impedance at the resonance peak to the impedance at 0.5 Hz (Hu *et al.*, 2002). In the absence of resonance, the Q-value is 1. On average, the Q-value measured at a potential of -65 mV was found to be close to 1.51 ± 0.24 for *oriens* interneurons ($n = 8$). Most importantly, the resonance behavior of *oriens* interneurons was totally suppressed after pharmacological blockade of h-channel with external Cs^+ (2 mM, **Fig. 7C** and **7D**). In the presence of external Cs^+ , the impedance profile resembled that of a purely passive membrane (Huchon & Yarom, 2000). This behavior was observed in all the interneurons tested ($n = 8$). Thus, h-channels set the resonance frequency near 1-2 Hz in interneurons from the *stratum oriens*.

Pacemaker activity in GABAergic interneuron is controlled by h-channels

In the cortex, activity of pyramidal neurons is synchronized by inhibitory interneurons (Cobb *et al.*, 1995). GABAergic interneurons from the *stratum oriens* inhibit the dendrite of CA1 pyramidal neurons. They are depolarized by cholinergic receptors and spontaneously fire at a frequency in the θ range. Although I_h contributes to *oriens* interneuron pacemaking activity by shaping AHPs (Maccaferri & McBain, 1996), the role of h-channels in determining the temporal regularity of the firing remains unclear. We re-examined this question in *stratum oriens* interneurons from the CA1 region. Interneurons were recorded in the presence of kynurenate and picrotoxin to block fast synaptic transmission. Upon depolarization by injection of constant positive current, these neurons fired regularly ($\text{CV} = 0.11 \pm 0.03$, $n = 6$) at a frequency close to the low θ -range (3.1 ± 0.5 Hz, $n = 6$; **Fig. 8A, 8B**). In the presence of external Cs^+ , the mean frequency decreased to 1.3 ± 0.2 Hz ($n = 6$), as

previously observed (Maccaferri & McBain, 1996). Most importantly, the regularity of the firing was markedly reduced ($CV = 0.31 \pm 0.07$, $n = 6$, **Fig. 8A, 8B**).

We next determined the origin of this decreased regularity of pacemaker firing. It has been established that fast rates of membrane depolarization favor temporally precise spiking (Sourd et al., 2003). In agreement with this idea, the rate of membrane repolarization during the decay of the AHP was found to be significantly reduced when h-channels were blocked pharmacologically (0.20 ± 0.02 mV/ms in control vs. 0.15 ± 0.01 mV/ms in Cs^+ , $n = 6$, $p < 0.01$). To further confirm this hypothesis, the temporal precision of the first spike was analyzed in OI when the firing was elicited by a ramp of current (**Fig. 9A**). The spike jitter was significantly smaller when APs were evoked with a fast rate (4.0 ± 0.3 ms vs. 8.9 ± 1.4 ms, paired *t*-test, $p < 0.05$; **Fig. 9B**).

In conclusion, the regularity of the pacemaker activity in SO interneurons is disorganized when h-channels are blocked through a reduction in the rate of the AHP decay.

DISCUSSION

We show here that h-channels set the regularity of 3-15 Hz network oscillation in the visual cortex and the hippocampus *in vitro*. To further understand the underlying mechanisms we focused our study on the role of *I_h* in the temporal organization of neuronal activity within the CA1 hippocampal circuitry. The blockade of *I_h* abolished intrinsic membrane resonance and decreased the regularity of pacemaker firing in interneurons from CA1 *stratum oriens*. Furthermore, *I_h* sets the temporal precision of IPSP-spike and EPSP-spike coupling in CA1 pyramidal neurons.

H-channels and neocortical and hippocampal θ -like oscillations

I_h is widely acknowledged as a major determinant of 4-10 Hz subthreshold and suprathreshold oscillations in thalamic circuits (Bal & McCormick, 1996; Lüthi & McCormick, 1998) and in the olive inferior (Bal & McCormick, 1997). In these subcortical circuits, h-current promotes the generation of low-threshold (T-type) calcium spikes on the top of which sodium action potentials can be elicited. Our study indicates that the role of h-current in determining network oscillation can be extended to cortical circuits.

Pharmacological blockade of *I_h* with 1 μ M ZD-7288 did not totally suppress carbachol-induced θ oscillations in both neocortical and hippocampal slices but rather disturbed their regularity and their amplitude. In fact, auto- and cross-correlation functions of neocortical or hippocampal CA3 field potential as well as intracellular voltage signals from L5 or CA1 pyramidal neurons displayed dampened and imprecise oscillations in the presence of h-channel blockers. The effects of ZD-7288 could be followed in the same recordings in the neocortex because spontaneous or evoked θ episodes were consistently observed. In contrast, θ oscillations in hippocampal slices were consistently induced in the first 2-5 minutes of carbachol application (6 out of 6 slices) but were much

less frequent after 10 minutes of application. Despite this fact, the comparison of θ oscillations induced in parent slices during the same experiments showed that oscillations measured in both CA3 (field potential) and CA1 (whole-cell) were less reproducible in the presence of ZD-7288.

We report here that the frequency of cortical oscillation was not affected by ZD-7288. Our findings are in total agreement with previous observations indicating that the power-spectrum of ~ 10 Hz cortical oscillations induced by disinhibition was not affected by external Cs^+ or ZD-7288 (Castro-Alamancos *et al.*, 2007). In this study however, the regularity of the oscillation was not analyzed. We clearly show here that both the amplitude and the regularity of the neocortical oscillation quantified by the auto-correlation function were decreased in the presence of ZD-7288.

The disorganization of cortical activity cannot be attributed to a non-specific effect of ZD-7288 such as post-synaptic hyperpolarization or blockade of synaptic transmission. At the concentration used in the experiments (1 μM) synaptic transmission is virtually unaffected (Chevalleyre & Castillo, 2003; see also Fig. 2 and Fig. 5). Furthermore, in contrast with a previous study (Cobb *et al.*, 2003) network and synaptic activity were not abolished in the presence of h-channel blocker (see Fig. 1 and Suppl. Fig. 2). In fact, the duration of θ -like episodes recorded in the neocortex was increased in the presence of ZD-7288, indicating that post-synaptic hyperpolarization plays here a minor role if any.

I_h sets the temporal precision of EPSP-Spike coupling

Temporal precision of EPSP-spike coupling is controlled by synaptic (Fricker & Miles, 2000; Pouille & Scanziani, 2001) and intrinsic (Fricker & Miles, 2000; Axmacher & Miles, 2004) conductances. In principle, outward currents that follow the EPSP reduce its duration near its maximum and allow generation of a postsynaptic action potential only in a restricted time-window. I_h follows this general rule since its deactivation by an EPSP produces a fictive outward current. In fact, we show that the duration of the EPSP at 90% of its maximal amplitude was significantly prolonged in the presence of h-channel blocker. Interestingly, the effects of Cs^+ and ZD-7288 on EPSP duration and precision were correlated, indicating that EPSP-spike precision depends on the shape of the EPSP at its maximum. Our study therefore confirms the definition of a simple rule governing the precision of EPSP-spike coupling where precision is improved when the sequence spike-outward current is observed (Fricker & Miles, 2000; Pouille & Scanziani, 2001). In fact, we show here that the ZD-7288-sensitive component of the current evoked by a voltage command mimicking an EPSP coincides temporally with the falling phase of the EPSP.

The results we obtained in CA1 pyramidal cells could well apply to any type of post-synaptic cell that express h-current and receive glutamatergic inputs. In fact, we believe that similar conclusion will be drawn for *oriens* interneurons, CA3 or L5 pyramidal cells. Further investigations will be necessary to specifically test the role of I_h in EPSP-spike precision in these neurons.

I_h sets temporal precision of IPSP-Spike coupling

Basket cells synchronize pyramidal cell firing through IPSP-mediated rebound spike firing (Cobb *et al.*, 1995). IPSP-spike coupling is a complex operation that involves the interplay between synaptic and voltage-gated conductances. In fact, at depolarizing potential IPSPs are amplified by the sodium persistent sodium current (I_{NaP} , Stuart, 1999). In addition, I_h determines the precision of IPSP-spike coupling. We show that the temporal dispersion of rebound spikes evoked by monosynaptic IPSPs at a potential of -50 mV was enhanced in the presence of external Cs^+ . The loss of temporal precision could be attributed here again to a reduction in the rate of membrane depolarization before spike generation (Sourdret *et al.*, 2003). Thus, we believe that h-channel-dependent shaping of IPSPs will enhance synchronization of pyramidal cells.

Although I_h is generally considered as a functional break in terms of intrinsic excitability, our results strongly suggest that excess of I_h will promote network synchronization through post-inhibitory rebound firing. In fact, the up-regulation of I_h observed following hyperthermia-induced seizures could participate to maintenance of epileptiform activity via this process (Chen *et al.*, 2001).

The role of I_h on IPSP-spike coupling is probably not limited to the synaptic articulation between basket cells and pyramidal neurons but could well apply to the inhibition of *oriens* interneurons. Indeed, these neurons display a large h-current (Maccaferri & McBain, 1996) and modeling studies suggests that rebound spiking in *oriens* interneurons represents a critical step in the synchronization of CA1 interneurons (Rotstein *et al.*, 2005). Similarly, our results could also well apply to L5 pyramidal neurons in the neocortex or to CA3 pyramidal cells. Further investigations will be necessary to directly test the role of I_h in IPSP-spike coupling in *oriens* interneurons, L5 and CA3 pyramidal neurons.

H-channels and intrinsic resonance

It is well established that h-channels significantly contribute to intrinsic membrane resonance at 3-8 Hz in both L5 and CA1 pyramidal neurons (Ulrich, 2002; Hu *et al.*, 2002). H-current is also present in a wide range of GABAergic hippocampal interneurons (Maccaferri & McBain, 1996; Lupica *et al.*, 2001; Aponte *et al.*, 2006). We focused our study on *stratum oriens* interneurons because their prominent h-current (Maccaferri & McBain, 1996; Lupica *et al.*, 2001) and their sensitivity to muscarinic receptor stimulation (Lawrence *et al.*, 2006) make them putative candidates in the patterning of carbachol-dependent θ oscillations. We show that *stratum oriens* interneurons display a resonance frequency that linearly depends on membrane potential. The resonance frequency was found to be faster at -75 mV than at -55 mV. Importantly, we show that h-channels play a critical role in the resonance of *stratum oriens* interneurons. In the presence of external Cs^+ , the resonance was totally abolished and the impedance profile resembled that of a purely passive membrane (Huchon & Yarom, 2000). Thus, h-channels not only determine the resonance frequency in the lower θ -frequency range in L5 and CA1 pyramidal neurons but also in GABAergic interneurons of the stratum oriens. Other CA1 hippocampal interneurons might express h-current-dependent intrinsic resonance. Half of CA1 hippocampal

interneurons located in the *strata pyramidale* and *radiatum* display I_h (Parra *et al.*, 1998). CA1 interneurons of stratum *lacunosum-moleculare* display h-current (Chapman & Lacaille, 1999). In addition, basket cells in the dentate gyrus exhibit a small h-current (Aponte *et al.*, 2006). Moreover, axons or cell body of putative PV positive basket-cells are immunopositive for HCN1, HCN2 and HCN4 (Brewster *et al.*, 2007). In the neocortex, Martinotti cells that are involved in recurrent inhibition of L5 pyramidal neurons (Silberberg & Markram, 2007) express HCN4, HCN3 and HCN2 subunits (Wang *et al.*, 2004). Therefore, we can speculate that the findings we report here for oriens interneurons could well apply to neocortical interneurons as well.

I_h controls pacemaker activity in oriens interneurons

Interneurons from the stratum *oriens* occupy a key position in the hippocampal circuitry. We show here that blocking h-channels disturbed pacemaker activity in oriens interneurons. Similar findings had been reported previously (Maccaferri & McBain 1996; Gillies *et al.*, 2002). However, in these studies the mechanism responsible for the decreased regularity of the firing was not elucidated. We show here that the rate of AHP repolarization is significantly reduced in the presence of external Cs^+ . Then, I_h not only accelerates the repolarization of GABA_A -receptor mediated IPSPs in pyramidal neurons but also fastens the decay of AHPs in *oriens* interneurons. In fact, we show that in *oriens* interneurons, the temporal jitter of APs evoked by a ramp was improved when the rate of depolarization was slightly increased (Fig. 9, see also Sourdet *et al.*, 2003). Fast rates of depolarization before spike generation represent a favorable condition for temporally precise firing probably because the time window during which voltage-gated channel noise interferes with spike generation is reduced.

Towards the definition of simple rules for temporal spike precision

Despite the variety of neuronal operation controlled by I_h , its contribution in the temporal organization of neuronal activity might be summarized into two main rules. First, I_h accelerates the rate of depolarization during the decay of AHP or IPSP and subsequently improves the regularity of pacemaker activity and IPSP-spike coupling. These actions resemble the effect of SK-mediated current in the control of the precision of the second spike when a train of spikes is elicited (Sourdet *et al.*, 2003). The second main action of I_h is the reduction of the EPSP duration, thus limiting the time during which an AP can be elicited. Thus, HCN-channel appears to be the fourth ion channel (after Kv -channels in interneurons (Fricker and Miles, 2000), GABA_A receptor in CA1 pyramidal neurons (Pouille & Scanziani, 2001) and Nav in CA1 pyramidal neurons (Vervaeke *et al.*, 2006)) that determines the EPSP-spike precision.

Functional implications

The I_h -dependent synchronization of network activity will have several important functional consequences. First, the developmental up-regulation of h-channel (Vasilyev & Barish, 2002) may be

at the origin of the increased coherence of brain oscillations reported during post-natal development in rat (Konopacki et al., 1988). In addition, activity-dependent plasticity of h-channel activity could produce associated changes in network synchronisation. In fact, *I_h* is homeostatically up-regulated by high levels of synaptic activity (Van Welie et al., 2004), post-synaptic depolarization (Van Welie et al., 2004; Fan et al., 2005) or by hyperthermia-induced epilepsy (Chen et al., 2001). Our study suggests that homeostatic increase in *I_h* may represent a favorable condition to increase network synchrony. Thus, this type of regulation may produce a perverse effect in increasing the susceptibility of inducing seizures (Chen et al., 2001).

In conclusion, our study demonstrates that in addition to its well established role on membrane resonance, *I_h* defines the precision of spike-timing during pacemaker firing in interneurons but also at excitatory and inhibitory synapses in CA1 pyramidal cells. We hypothesize that, by this way, h-channels contribute to lock slow frequency oscillations in the theta range both in neocortical and hippocampal circuits.

Acknowledgments: We thank Drs. J. Behrens, N. Ropert and M. Seagar for constructive criticisms on the manuscript and J.M. Goaillard and O. Caillard for helpful discussion. Supported by INSERM (Avenir), CNRS, ANR (Neuroscience), IBRO (post-doctoral fellowship to RC), FRM (doctoral grants to PG & EC), AFM (post-doctoral fellowship to RC), and Ministry of Research (doctoral grants to PG and EC).

REFERENCES

- Aponte Y, Lien C-C, Reisinger E & Jonas P (2006) Hyperpolarization-activated cation channels in fast-spiking interneurons of rat hippocampus. *J Physiol* **574**, 229–243.
- Axmacher N & Miles R (2004) Intrinsic cellular currents and the temporal precision of EPSP-action potential coupling in CA1 pyramidal cells. *J Physiol* **555**, 713–725.
- Bal T & McCormick DA (1996) What stops synchronized thalamocortical oscillations? *Neuron* **17**, 297–308.
- Bal T & McCormick DA (1997) Synchronized oscillations in the inferior olive are controlled by the hyperpolarization-activated cation current *I_h*. *J Neurophysiol* **77**, 3145–3156.
- Bender RA, Galindo R, Mameli M, Gonzalez-Vega R, Valenzuela CF & Baram TZ (2005) Synchronized network activity in developing rat hippocampus involves regional hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channel function. *Eur J Neurosci* **22**, 2669–2674.
- Boudkkazi S, Carlier E, Ankri N, Caillard O, Giraud P, Fronzaroli-Molinieres L & Debanne D (2007) Release-dependent variations in synaptic latency: a putative code for short- and long-

- term synaptic dynamics. *Neuron* **56**, 1048-1060.
- van Brederode JF & Spain WJ (1995) Difference in inhibitory synaptic input between layer II-III and layer V neurons of the cat neocortex. *J Neurophysiol* **74**, 1149-1166.
- Brewster A, Bender RA, Chen Y, Dube C, Eghbal-Ahmadi M & Baram TZ (2002) Developmental febrile seizures modulate hippocampal gene expression of hyperpolarization-activated channels in an isoform- and cell-specific manner. *J Neurosci* **22**, 4591–4599.
- Brewster AL, Chen Y, Bender RA, Yeh A, Shigemoto & Baram TZ (2007) Quantitative analysis of subcellular distribution of mRNA and protein expression of the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels throughout development in rat hippocampus. *Cereb Cortex* **17**, 702-712.
- Bringuier V, Frégnac Y, Baranyi A, Debanne D & Shulz DE (1997). Synaptic origin and stimulus dependency of neuronal oscillatory activity in the primary visual cortex of the cat. *J Physiol* **500**, 751–774.
- Buzsáki G (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* **33**, 325–340.
- Campanac E, Daoudal G, Ankri N & Debanne D (submitted) Hebbian-like regulation of dendritic I_h in CA1 pyramidal neurons following LTP.
- Carlier E, Sourdet V, Boudkkazi S, Déglise P, Ankri N, Fronzaroli-Molinieres L & Debanne D (2006) Metabotropic glutamate receptor subtype 1 regulates sodium currents in rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol* **577**, 141-154.
- Castro-Alamancos MA, Rigas P & Tawara-Hirata Y (2007) Resonance (approximately 10 Hz) of excitatory networks in motor cortex: effects of voltage-dependent ion channel blockers. *J Physiol* **578**, 173-191.
- Chapman CA & Lacaille JC (1999) Intrinsic theta-frequency membrane potential oscillations in hippocampal CA1 interneurons of stratum lacunosum-moleculare. *J Neurophysiol* **81**, 1296-1307.
- Chen S, Wang J & Siegelbaum SA (2001) Properties of hyperpolarization-activated pacemaker current defined by coassembly of HCN1 and HCN2 subunits and basal modulation by cyclic nucleotide. *J Gen Physiol* **117**, 491–504.
- Chen K, Aradi I, Thon N, Eghbal-Ahmadi M, Baram TZ & Soltesz I (2001) Persistent modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* **7**, 331-337.
- Chevaleyre V & Castillo (2003) Assessing the role of I_h channels in synaptic transmission and mossy fiber LTP. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 9538-9543.
- Cobb SR, Buhl EH, Halasy K, Paulsen O & Somogyi P (1995) Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* **378**, 75-78.

- Cobb SR, Larkman PM, Bulters DO, Oliver L, Gill CH & Davis CH (2003) Activation of *I_h* is necessary for patterning of mGluR and mAChR induced network activity in the hippocampal CA3 region. *Neuropharmacology* **44**, 293-303.
- Daoudal G, Hanada Y & Debanne D (2002) Bidirectional plasticity of excitatory postsynaptic (EPSP)-spike coupling in CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 14512-14517.
- Dugladze T, Vida I, Tort AB, Gross A, Otahal J, Heinemann U, Kopell NJ & Gloveli T (2007) Impaired hippocampal rhythmogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 17530-17535.
- Fischer Y, Gähwiler BH & Thompson SM (1999) Activation of intrinsic hippocampal theta oscillations by acetylcholine in rat septo-hippocampal cocultures. *J Physiol* **519**, 405-413.
- Fricker D & Miles R (2000) EPSP amplification and the precision of spike timing in hippocampal neurons. *Neuron* **28**, 559-569.
- Gasparini S & DiFrancesco D (1997) Action of the hyperpolarization-activated current (*I_h*) blocked by ZD-7288 in hippocampal CA1 neurons. *Pflügers Arch* **435**, 99-106.
- Gillies MJ, Traub RD, Le Beau FE, Davies CH, Gloveli T, Buhl EH & Whittington MA (2002) A model of atropine-resistant theta oscillations in rat hippocampal area CA1. *J Physiol* **543**, 779-793.
- Hu H, Vervaeke K & Storm JF (2002) Two forms of electrical resonance at theta frequencies, generated by m-current, h-current and persistent Na⁺ current in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* **545**, 783-805.
- Huang CW, Huang CC, Liu YC & Wu SN (2004) Inhibitory effect of lamotrigine on A-type potassium current in hippocampal neuron-derived H19-7 cells. *Epilepsia* **45**, 729-736.
- Hutcheon B & Yarom Y (2000) Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. *Trends Neurosci* **23**, 216-222.
- Kitayama M, Taguchi T, Miyata H, Matsuda Y, Yamauchi T & Kogure S (2002) The extracellular current blocking effect of cesium chloride on the theta wave in the rabbit hippocampal CA1 region. *Neurosci Lett* **334**, 45-48.
- Konopacki J, MacIver MB, Bland BH & Roth SH (1987) Carbachol-induced EEG 'θ' activity in hippocampal brain slices. *Brain Res* **405**, 196-198.
- Konopacki J, Bland BH & Roth SH (1988) The development of carbachol-induced EEG 'θ' examined in hippocampal formation slices. *Dev Brain Res* **38**, 229-232.
- Lörincz A, Notomi T, Tamas G, Shigemoto R & Nusser Z (2002) Polarized and compartment-dependent distribution of HCN1 in pyramidal cell dendrites. *Nat Neurosci* **5**, 1185-1193.
- Lukatch HS & MacIver MB (1997) Physiology, pharmacology, and topography of cholinergic

- neocortical oscillations in vitro. *J Neurophysiol* **77**, 2427–2445.
- Lüthi A & McCormick DA (1998) H-current: properties of a neuronal and network pacemaker. *Neuron* **21**, 9–12.
- Maccaferri G, Mangoni M, Lazzari A & Di Francesco D (1993) Properties of the hyperpolarization-activated current in rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* **69**, 2129–2136.
- Maccaferri G & McBain CJ (1996) The hyperpolarization-activated current (*I_h*) and its contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alveus interneurons. *J Physiol* **497**, 119–130.
- Magee JC (1998) Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* **18**, 7613–7624.
- Nolan MF, Malleret G, Dudman JT, Buhl DL, Santoro B, Gibbs E, Vronskaya S, Buzsaki G, Siegelbaum SA, Kandel ER & Morozov A (2004) A behavioral role for dendritic integration: HCN1 channels constrain spatial memory and plasticity at inputs to distal dendrites of CA1 pyramidal neurons. *Cell* **119**, 719–732.
- Notomi T & Shigemoto R (2004) Immunohistochemical localization of *I_h* channel subunits, HCN1–4, in the rat brain. *J Comp Neurol* **471**, 241–276.
- Parra P, Gulyas AI & Miles R (1998) How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* **20**, 983–993.
- Pike F, Goddard RS, Suckling JM, Ganter P, Kasthuri N & Paulsen O (2000) Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurones in response to oscillatory input currents. *J Physiol* **529**, 205–213.
- Poolos NP, Migliore M & Johnston D (2002) Pharmacological upregulation of *h*-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat Neurosci* **5**, 767–774.
- Pouille F & Scanziani M (2001) Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science* **293**, 1159–1163.
- Prinz AA, Abbott LF & Marder E (2004) The dynamic clamp comes of age. *Trends Neurosci* **27**, 218–224.
- Rateau Y & Ropert N (2006) Expression of a functional hyperpolarization-activated current (*I_h*) in the mouse nucleus reticularis thalami. *J Neurophysiol* **95**, 3073–3085.
- Reich CG, Karson MA, Karnup SV, Jones LM & Alger BE (2005) Regulation of IPSP θ rhythm by muscarinic receptors and endocannabinoids in hippocampus. *J Neurophysiol* **94**, 4290–4299.
- Remy S, Urban BW, Elger R & Beck H (2003) Anticonvulsant pharmacology of voltage-gated Na⁺ channels in hippocampal neurons of control and chronic epileptic rats. *Eur J Neurosci* **17**, 2648–2658.
- Robinson RB & Siegelbaum SA (2003) Hyperpolarization-activated cation currents: from

- molecules to physiological function. *Annu Rev Physiol* **65**, 453-480.
- Rotstein HG, Pervouchine DD, Acker CD, Gillies MJJ, White JA, Buhl EH, Whittington MA & Kopell N (2005) Slow and fast inhibition and an h-current interact to create a θ rhythm in a model of CA1 interneuron network. *J Neurophysiol* **94**, 1509-1518.
- Sharp AA, O'Neil MB, Abbott LF & Marder E (1993). The dynamic clamp: artificial conductances in biological neurons. *Trends Neurosci* **16**, 389-394.
- Silberberg G & Markram H (2007) Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells is mediated by Martinotti cells. *Neuron* **53**, 735-746.
- Somogyi P & Klausberger T (2005) Defined types of cortical interneurones structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol* **562**, 9-26.
- Sourdet V, Russier M, Daoudal G, Ankri N & Debanne D (2003) Long-term enhancement of neuronal excitability and temporal fidelity mediated by metabotropic glutamate receptor subtype 5. *J Neurosci* **23**, 10238-10248.
- Surges R, Brewster AL, Bender RA, Beck H, Feuerstein TJ & Baram TZ (2006) Regulated expression of HCN channels and cAMP levels shape the properties of the h current in developing rat hippocampus. *Eur J Neurosci* **24**, 94-104.
- Ulrich D (2002) Dendritic resonance in rat neocortical pyramidal cells. *J Neurophysiol* **87**, 2753-2759.
- Vervaeke K, Hu H, Graham LJ & Storm JF (2006) Contrasting effects of the persistent Na⁺ current on neuronal excitability and spike timing. *Neuron* **49**, 257-270.
- Van Welie I, van Hooft JA & Wadman WJ (2004) Homeostatic scaling of neuronal excitability by synaptic modulation of somatic hyperpolarization-activated I_h channels. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**, 5123-5128.
- Vasilyev DV & Barish ME (2002) Postnatal development of the hyperpolarization-activated excitatory current I_h in mouse hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* **22**, 8992-9004.
- Wang Y, Toledo-Rodriguez M, Gupta A, Wu C, Silberberg G, Luo J & Markram H (2004) Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat. *J Physiol* **561**, 65-90.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Effects of h-channel blocker on hippocampal θ -oscillation. A, spontaneous oscillations induced by 50 μ M carbachol (CCh). Top traces, simultaneously whole-cell recording from a CA1 pyramidal neuron (CA1) and field potential in the CA3 region (Field, CA3). Lower left graph, auto-correlation function of the extracellular (black) and intracellular (blue) signals. Note the regularity of oscillation with very small attenuation in the amplitude over >10 cycles ($C_0=0.005$ and $A_0=1.7$). Lower

right graph, cross-correlation function of the extracellular and intracellular signals. Note the robustness of the oscillation. *B*, carbachol evoked oscillations in the presence of 1 μ M ZD-7288. Top traces, intracellular (violet) and field potential (red) during θ oscillation. Note the attenuation in the oscillation amplitude after a few cycles in the auto- and cross-correlation functions.

Figure 2. H-channels determine precision of EPSP-spike coupling in CA1 pyramidal neurons. *A*, EPSP-spike coupling during theta-oscillations. *B* and *C*, Effects of external Cs^+ (*B*) and ZD-7288 (*C*) on the precision of EPSP-spike coupling. In all cases, EPSPs were evoked in the presence of 100 μ M PiTX by the stimulation of the Schaffer collaterals to produce in nearly 50% of the trials a postsynaptic AP. Left, control condition. Top, representative traces. Bottom, histogram of postsynaptic APs. Right, EPSP-spike coupling in the presence of 2.5 mM Cs^+ (*B*) or 1 μ M ZD-7288 (*C*). *D*, Analysis of the standard deviation (SD) of AP latency in control and in the presence of h-channel blockers (*, Wilcoxon-test $p < 0.01$). *E*, Effect of h-channel blockers on the duration of the maximal depolarization of EPSP (90%). Top, representative traces in control (black) and in the presence of h-channel blockers (red). Bottom, summary of the quantification of the EPSP duration measured at 90% of its maximal amplitude (*, Wilcoxon-test, $p < 0.05$). *F*, Normalized SD as a function of normalized EPSP duration at 90% induced by h-channel blockers. Black line, linear regression ($y = 5.07x - 632$, $R^2 = 0.84$).

Figure 3. Addition of exogenous G_h with dynamic current-clamp improves EPSP-spike precision in CA1 pyramidal neurons. *A*, Experimental design (left) and effects of addition of G_h on input resistance (top right) and EPSP waveform (bottom right). Note the decrease in the amplitude of hyperpolarization evoked by a pulse of constant current (downward arrow) and the acceleration of the EPSP decay (upward arrow). *B*, improvement of EPSP-spike coupling precision with addition of G_h . Representative voltage-traces and histograms of post-synaptic spikes in control condition (left) and when h-conductance (+10 nS) was added (right). Here, again, the probability of firing was maintained close to 0.5 in both conditions. EPSP-spike coupling was more precise when G_h was injected. *C*, summary of the effects of G_h on the SD of the post-synaptic spike (*, Wilcoxon-test, $p < 0.05$). *D*, Effect of G_h addition on the EPSP duration at 90% of its amplitude (*, Wilcoxon-test, $p < 0.05$).

Figure 4. H-current activated by a somatically injected EPSP-waveform in CA1 pyramidal neurons. *A*, voltage-clamp responses to somatic injection of a simulated EPSP-waveform. Records were obtained in the presence of blockers of synaptic transmission (2 mM kynurate and 100 μ M PiTX) and voltage-gated channels (500 nM TTX, 100 μ M 4-AP, 5 mM TEA and 200 μ M Ni^+). I_h was isolated by subtracting evoked current in the presence of 50 μ M ZD-7288. *B*, Time-course of h-current activated by an EPSP-waveform. Whatever the amplitude of the EPSP-waveform used here, the h-current peaked during the falling phase of the EPSP (dashed line, peak of the EPSP-waveform). Right,

amplitude (○) and rise time (■) of ZD-sensitive current vs. amplitude of the EPSP-waveform.

Figure 5. I_h determines precision of IPSP-spike coupling in CA1 pyramidal neurons. *A*, IPSP-spike sequences observed in a CA1 pyramidal neuron during θ episodes induced by CCh. APs (arrows) are truncated. *B*, IPSP-spike coupling assessed in CA1 pyramidal neurons. The neuron was held near its spike threshold (~ -50 mV) by injection constant current. Top traces, representative trials in control (left) and in the presence of 2.5 mM Cs^+ (right). Lower histograms, peri-stimulus time histograms of total spiking activity (filled histograms) and of the first spikes (empty histograms). Synaptic stimulation occurred at 400 ms. Histograms of the 1st spikes were fitted with Gaussian functions and in each case the deviation (σ) was determined. *C*, effect of Cs^+ on the deviation (σ) of the rebound spiking activity ($n = 7$ CA1 neurons). *D*, incidence of I_h on the decay of IPSP. Left, subthreshold traces averaged over 25 traces from the experiment illustrated in *B* (black trace, control; red trace Cs^+). Right, plot of the IPSP decay slope in control and in the presence of Cs^+ .

Figure 6. Synchronization of CA1 pyramidal neurons with common IPSPs depends on h-current. *A*, pairs of CA1 pyramidal neurons were recorded simultaneously and a common monosynaptic IPSP was evoked in the presence of 2 mM kynurenatate to procure rebound spikes in the two neurons. Left, experimental designed. Right, 2 pairs of representative traces recorded in control and in the presence of external Cs^+ (2.5 mM). Note the temporal coincidence between the 1st spikes from both cells in control but not in the presence of h-channel blocker. *B*, histograms of the first spikes in each cell in the absence (control) and in the presence of external Cs^+ . *C*, Histograms of the time difference of the first spike latencies (i.e. cross-correlation) before and after bath application of Cs^+ . The deviation of the cross-correlation (σ) was larger in the presence of Cs^+ . *D*, summary of the effect of h-channel blocker (Cs^+) on σ . The difference between control and Cs^+ was statistically significant (*, Wilcoxon-test $p < 0.02$).

Figure 7. I_h -dependent resonance in *stratum oriens* interneuron. *A*, Physiological characteristics of an oriens interneuron. Top, DIC-IR picture of the recorded neuron. Bottom, current-clamp response of the neuron. Note the presence of a large depolarizing sag in response to injection of hyperpolarizing current. *B*, Voltage-dependence of the resonance. Top, representative voltage profiles in response to a sinusoidal current, at two different membrane potentials (-60 mV) and (-68 mV). Middle graph, impedance profiles in the two conditions. Note that the peak frequency is slightly faster frequency at -68 mV (1.9 Hz). Lower graph, group data ($n=8$ cells) showing the peak frequency as a function of membrane potential (linear regression, $y = -0.037x - 1.016$, $R^2=0.88$). *C* and *D*, Effects of external Cs^+ on the impedance profile of an oriens interneuron.

Figure 8. I_h controls pacemaker activity in oriens interneurons. *A*, effect of external Cs^+ on pacemaker activity. Left, the cell was slightly depolarized by constant positive current to produce regular spiking activity. Right, firing pattern in the presence of 2 mM Cs^+ . *B*, analysis of pacemaker activity. Left, histograms of inter-spike intervals (ISI) in control (black histogram) and in the presence of Cs^+ (blue histogram). Right, coefficient of variation (CV) in control (\circ) and in the presence of Cs^+ (\circ) analyzed in 6 oriens interneurons. *C*, reduced rate of repolarization during the AHP. Left, superimposed traces in control (black) and in the presence of Cs^+ (blue). Dashed vertical lines indicate the window where the slope has been measured. Right, voltage slope measured during the AHP decay in control (\bullet) and in the presence of Cs^+ (\bullet) in 6 oriens interneurons.

Figure 9. The rate of membrane depolarization determines spike precision in oriens interneurons. *A*, The firing precision of the neuron was assessed with slow and fast rates of depolarization induced by current ramps. The voltage slope imposed by the ramp corresponded to the decay of the AHP in the presence or in the absence of h-channel blocker. Firing became more precise when the rate of depolarization increased (left column, SD = 9.7 ms, 53 trials; right column, SD = 3.7 ms, 46 trials). *B*, summary of the data in 3 cells (*, paired t-test, $p < 0.05$).

Supplementary Figure 1. Analysis of the coefficient of oscillation (C_o) and amplitude of oscillation (A_o). *A*, Coefficient of oscillation (C_o). The first 6 extrema were detected on the autocorrelation function and the intervals (from I_1 to I_6) were measured. C_o was calculated as indicated by the equation (SD, standard deviation). In the present example, the oscillation was regular and C_o was small (0.073). *B*, Amplitude of oscillation (A_o). The amplitude was calculated as indicated by the equation. In this example, the oscillation is only slightly attenuated and A_o is large (1.015).

Supplementary Figure 2. Disorganization of visual cortical θ -oscillation *in vitro* by pharmacological blockade of I_h . *A*, Spontaneous θ oscillations induced by 50 μM carbachol (CCh) and 10 μM bicuculline (Bic). Left, example of spontaneous θ -oscillation in the visual cortex recorded simultaneously in field potential (black trace) and from a L5 pyramidal neuron (blue trace). Lower graph, auto-correlation function of the extracellular (black) and intracellular (blue) signals. Red dots correspond to local extrema used to calculate the coefficient of oscillation and the amplitude of oscillation (see **Supplementary Figure 1** for details). Right, in the presence of the h-channel blocker ZD-7288, C_o increased (from 0.023 to 0.125) and A_o decreased (from 0.734 to 0.406). Note the increased number of spikes per θ episode (control: 13 spikes/episode, ZD-7288: 29 spikes/episode). *B*, Evoked θ oscillations in the neocortex. Field potential was recorded extracellularly in L5 of visual cortical slices and θ oscillations were evoked by electrical stimulation in L2/3 in the presence of 50 μM CCh and 10 μM Bic. Upper traces, evoked θ oscillations. The dashed square represents the analyzed

signal (enlarged lower traces). Lower graph, normalized auto-correlation function of the selected signal. In control (left column), the field potential displayed an oscillation with a high coherence ($C_o=0.073$) and a large amplitude ($A_o=1.015$). In the presence of 1 μ M ZD-7288 (right column), the coherence and the amplitude of the oscillation decreased ($C_o=0.275$; $A_o=0.708$). C, Effects of ZD-7288 on the coefficient of oscillation (left) and the amplitude of oscillation (right) for spontaneous (black circles) and evoked θ oscillations (grey circles) recorded extracellularly.

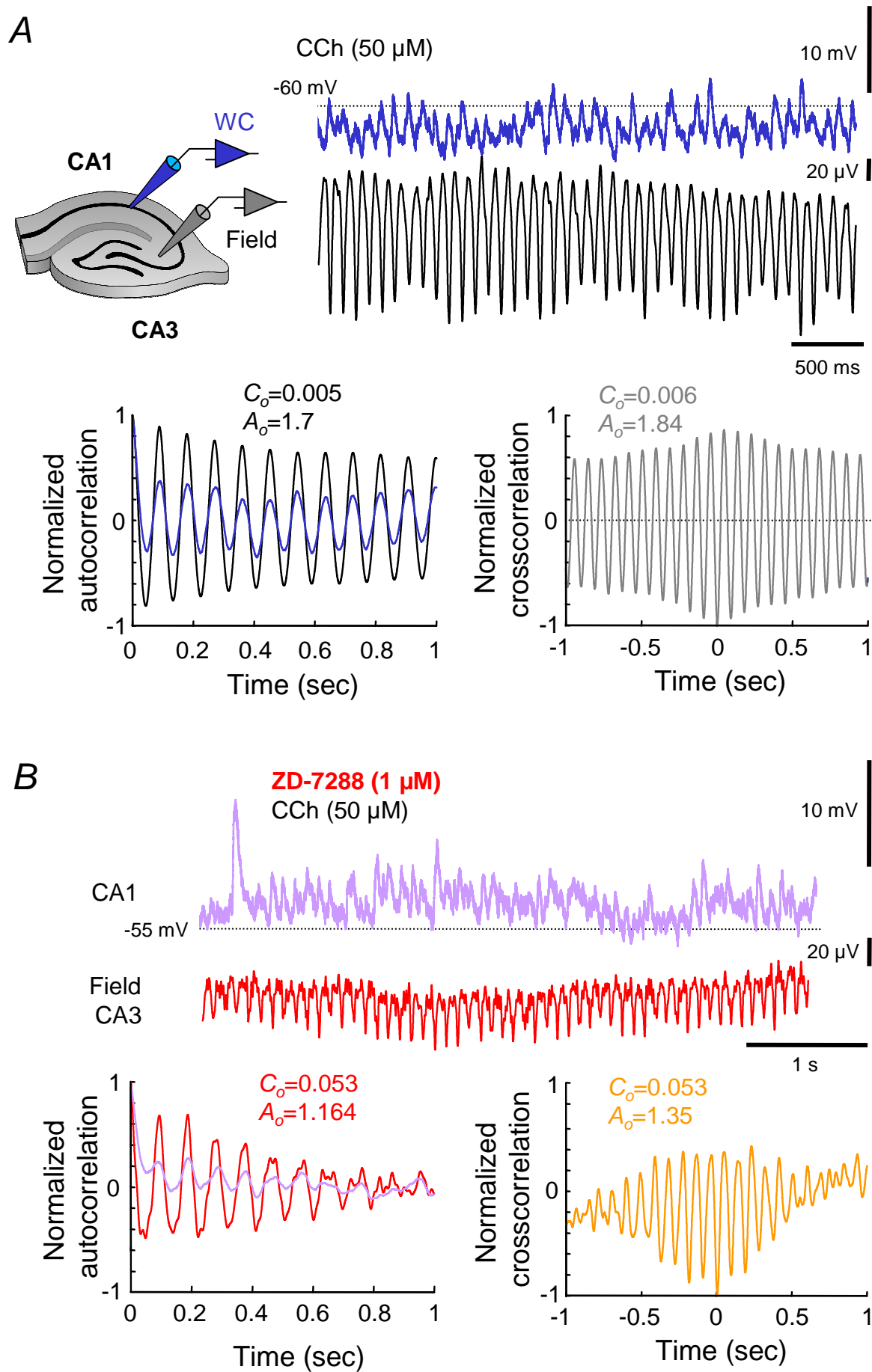


Figure 1

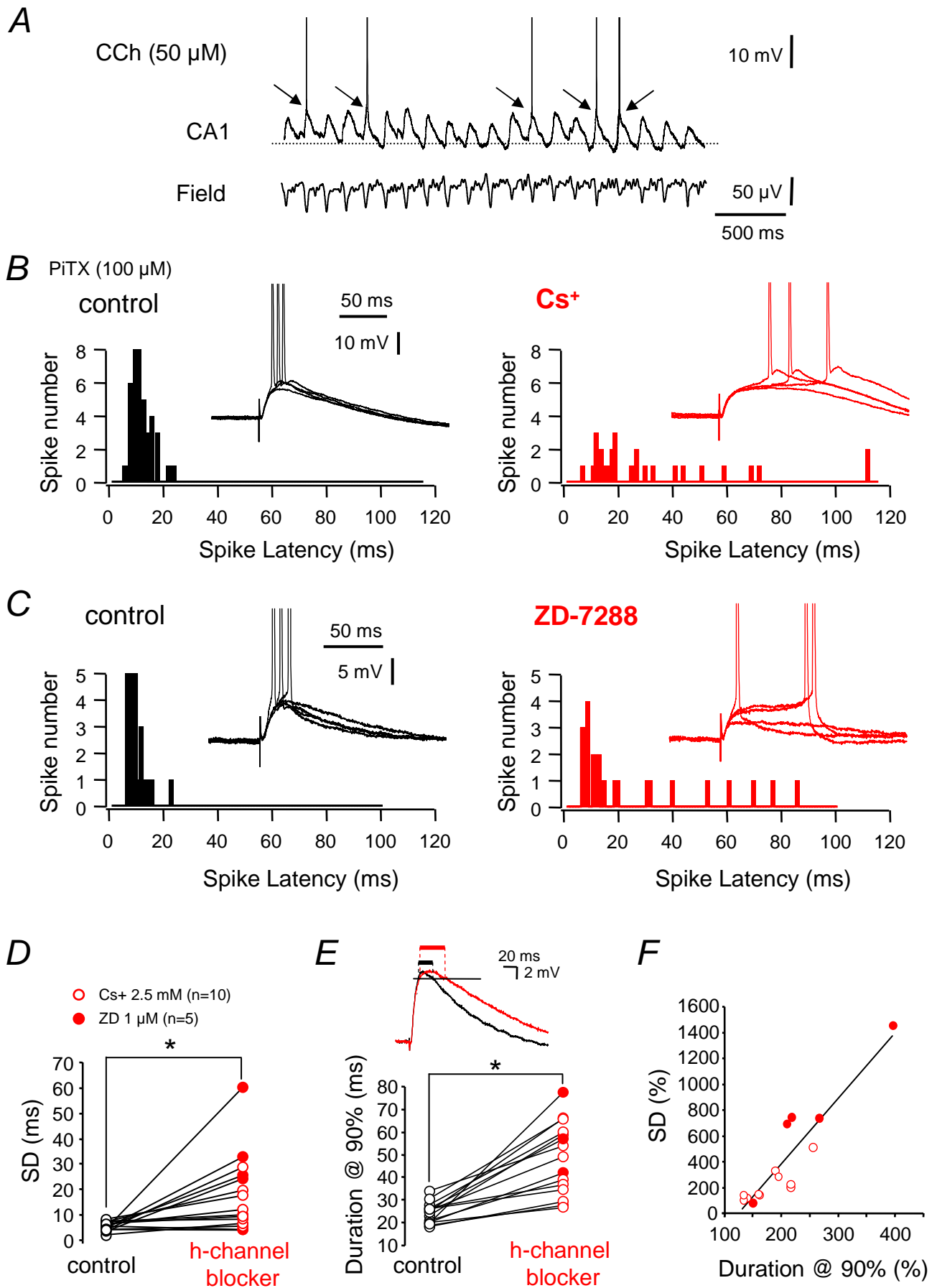


Figure 2

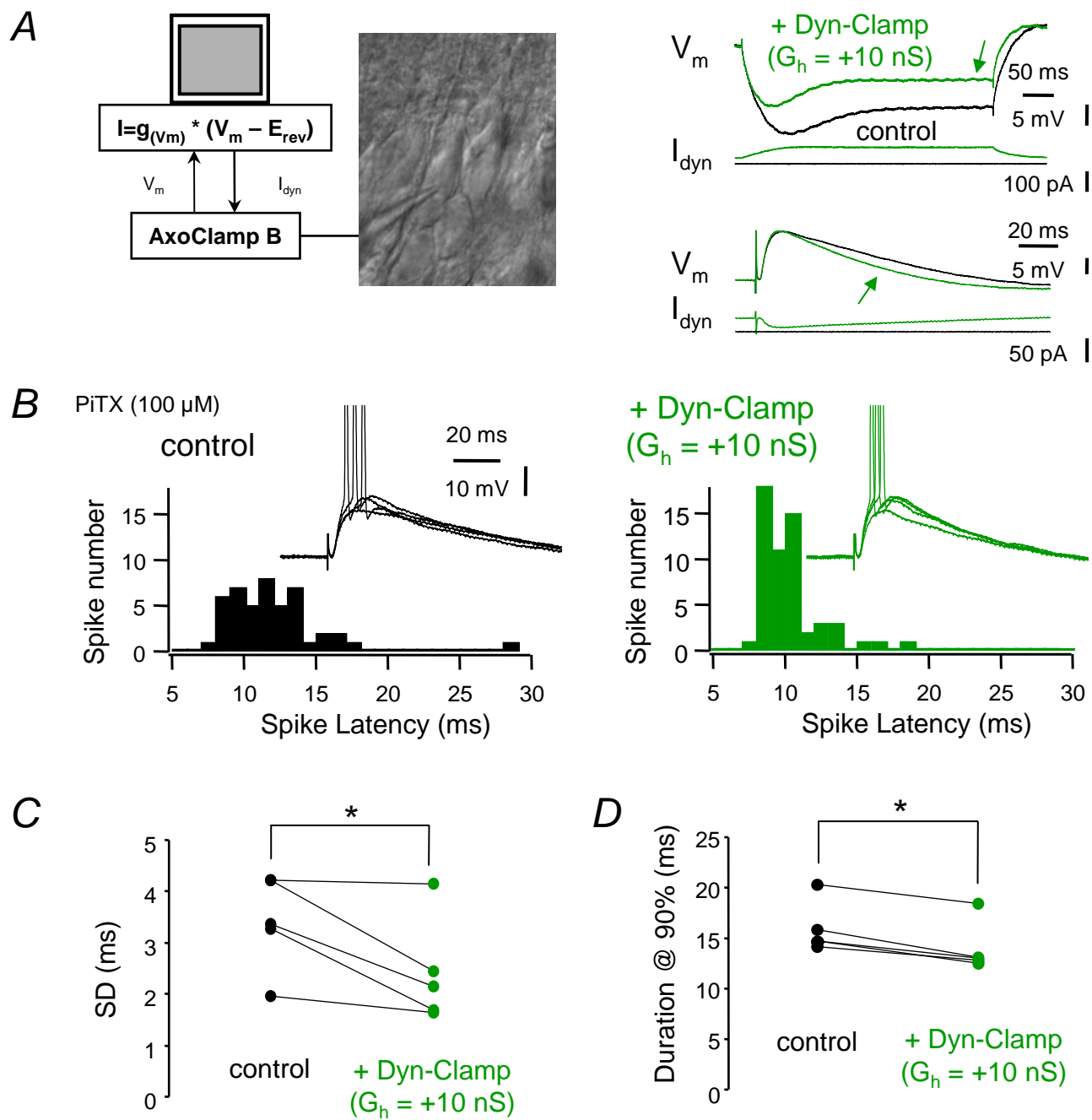


Figure 3

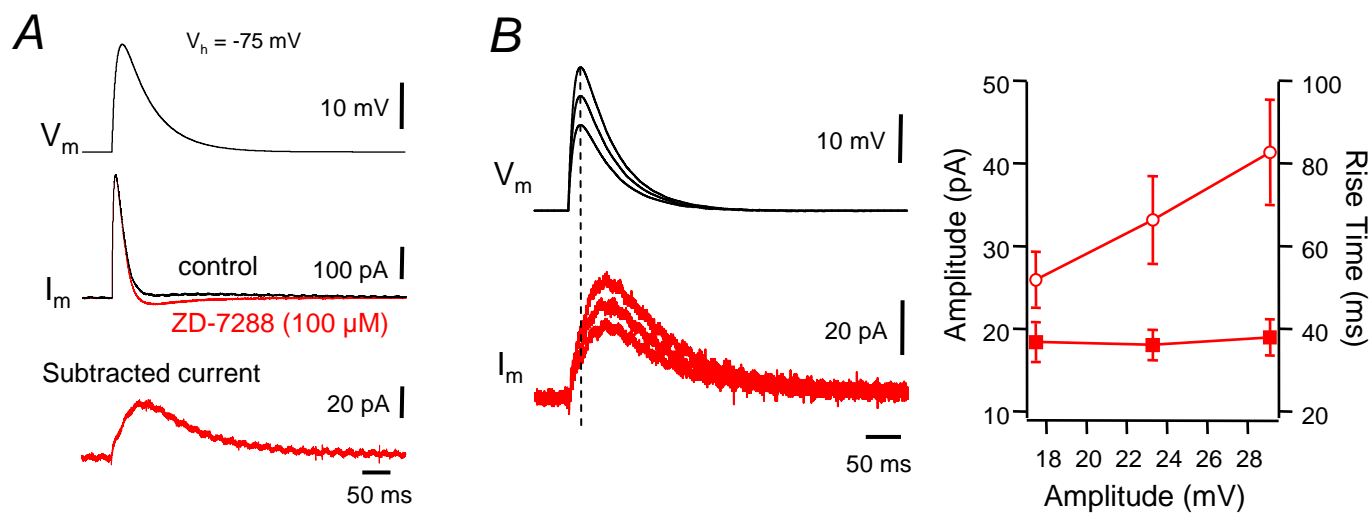


Figure 4

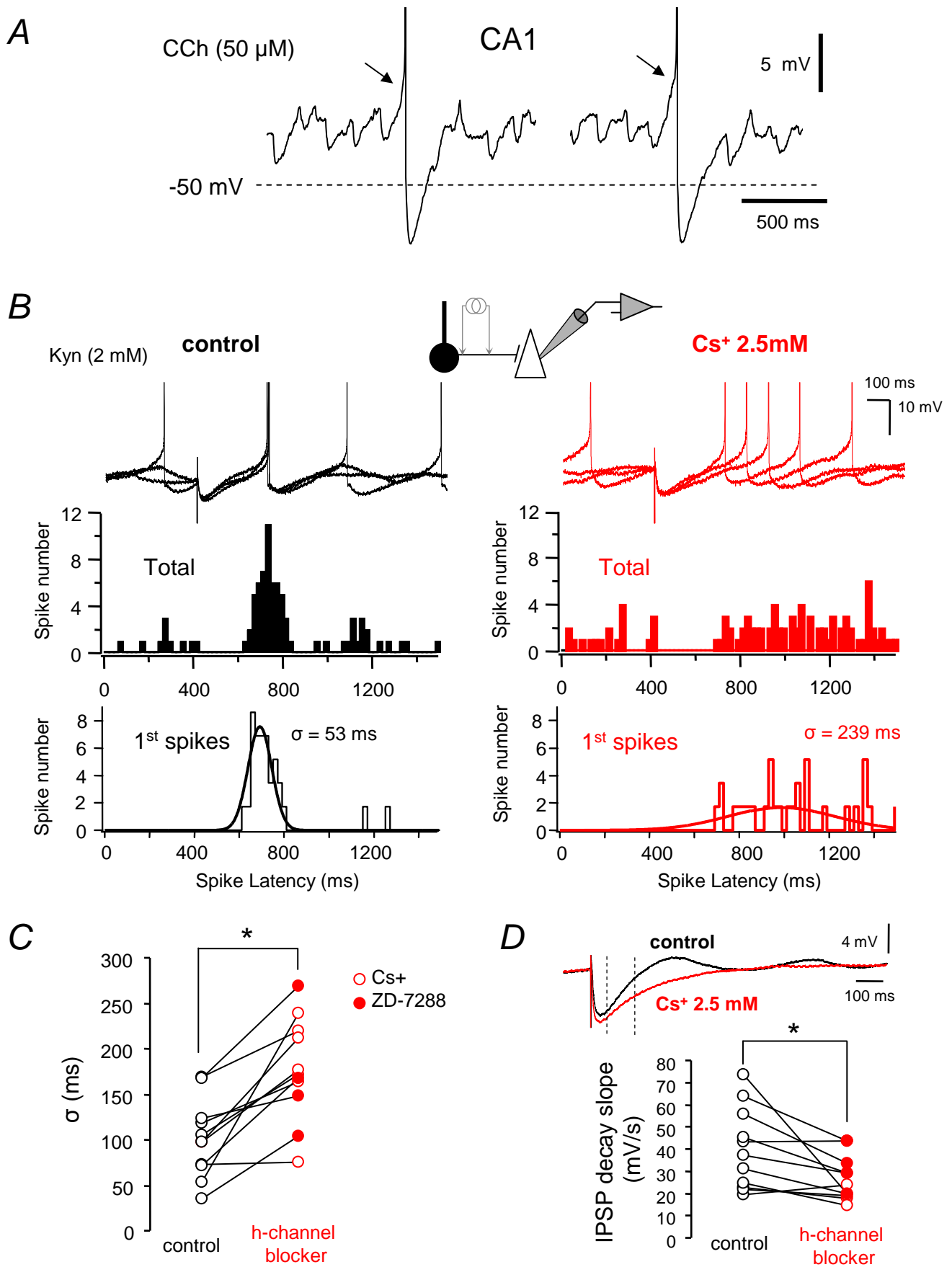


Figure 5

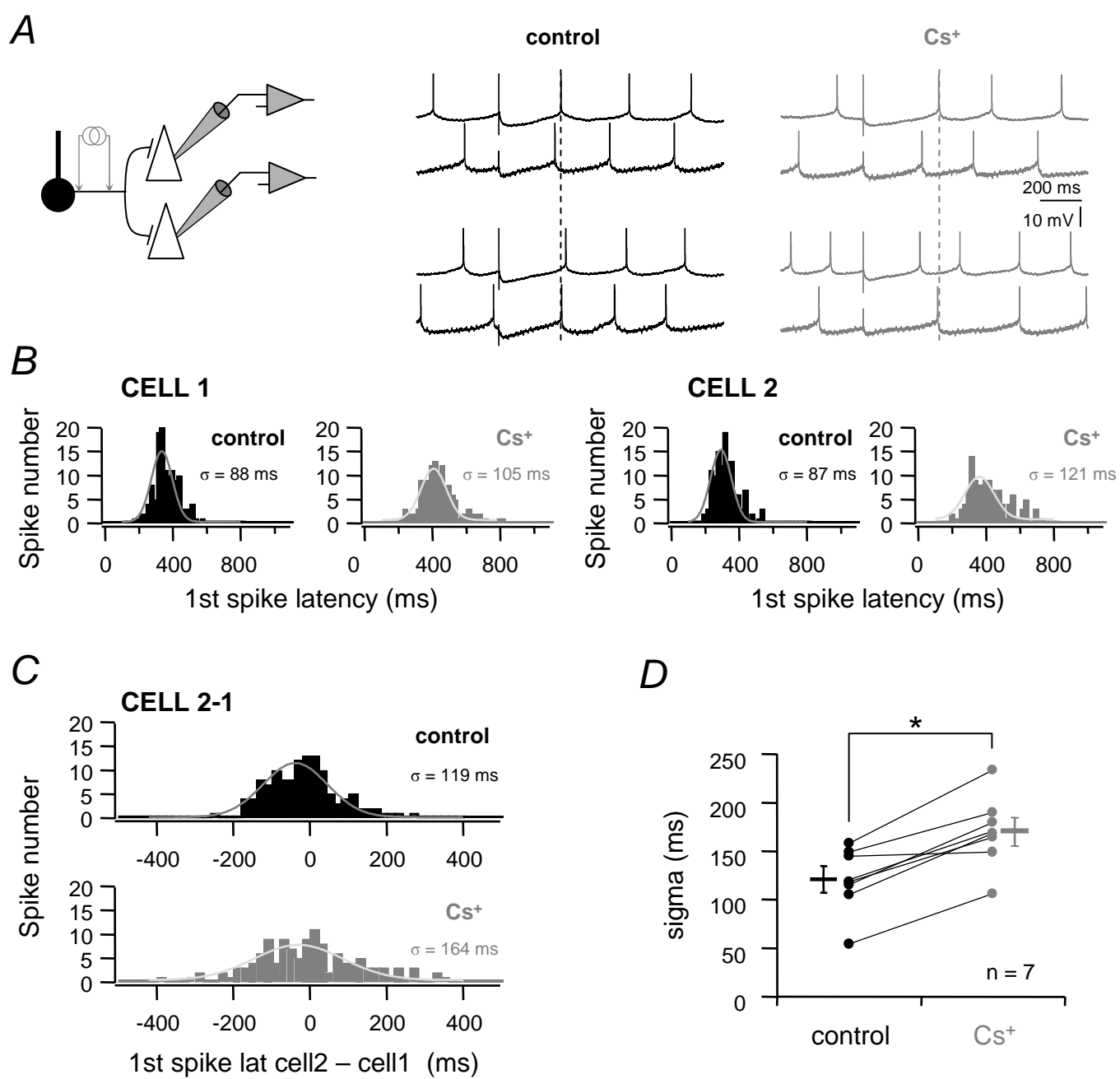


Figure 6

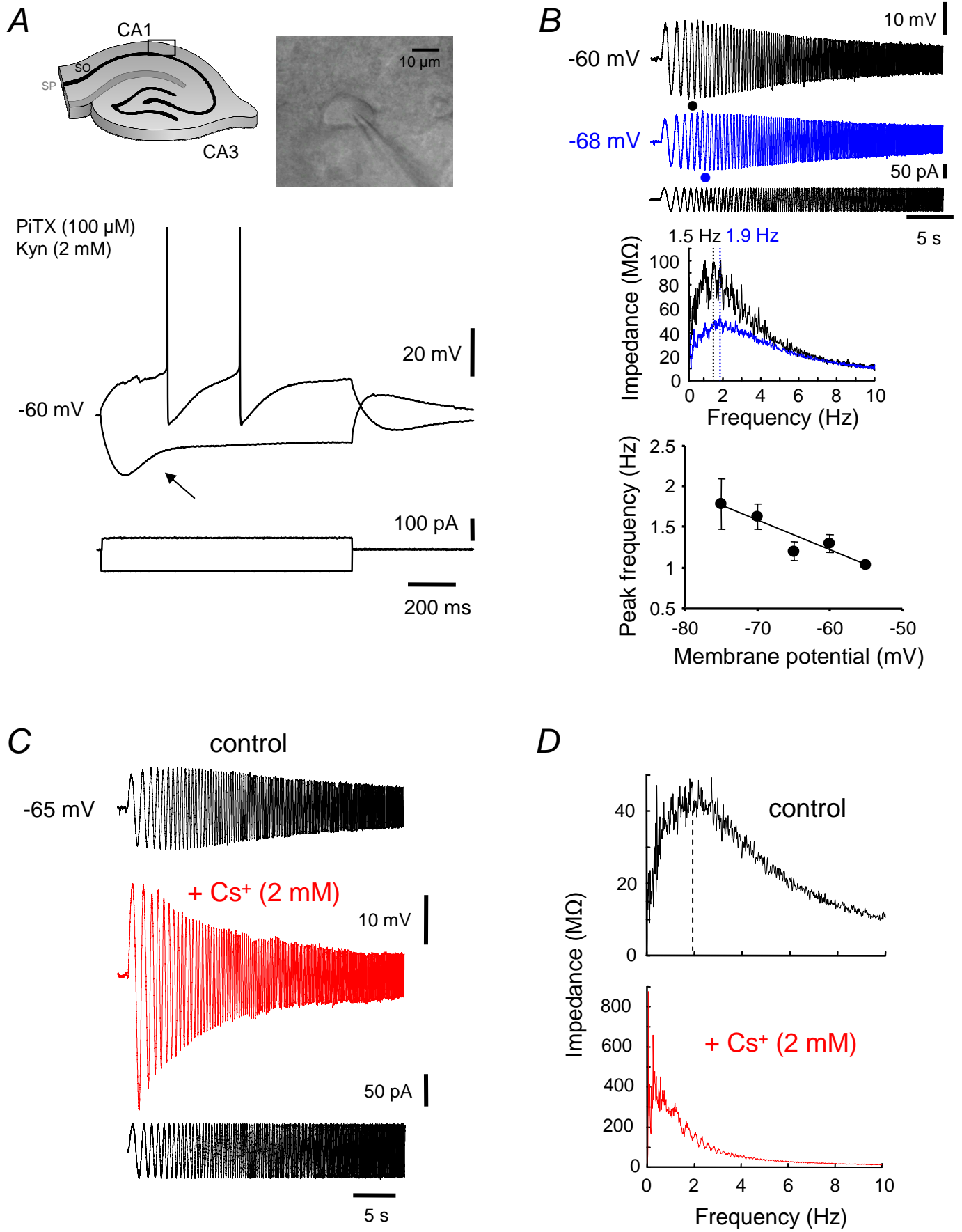


Figure 7

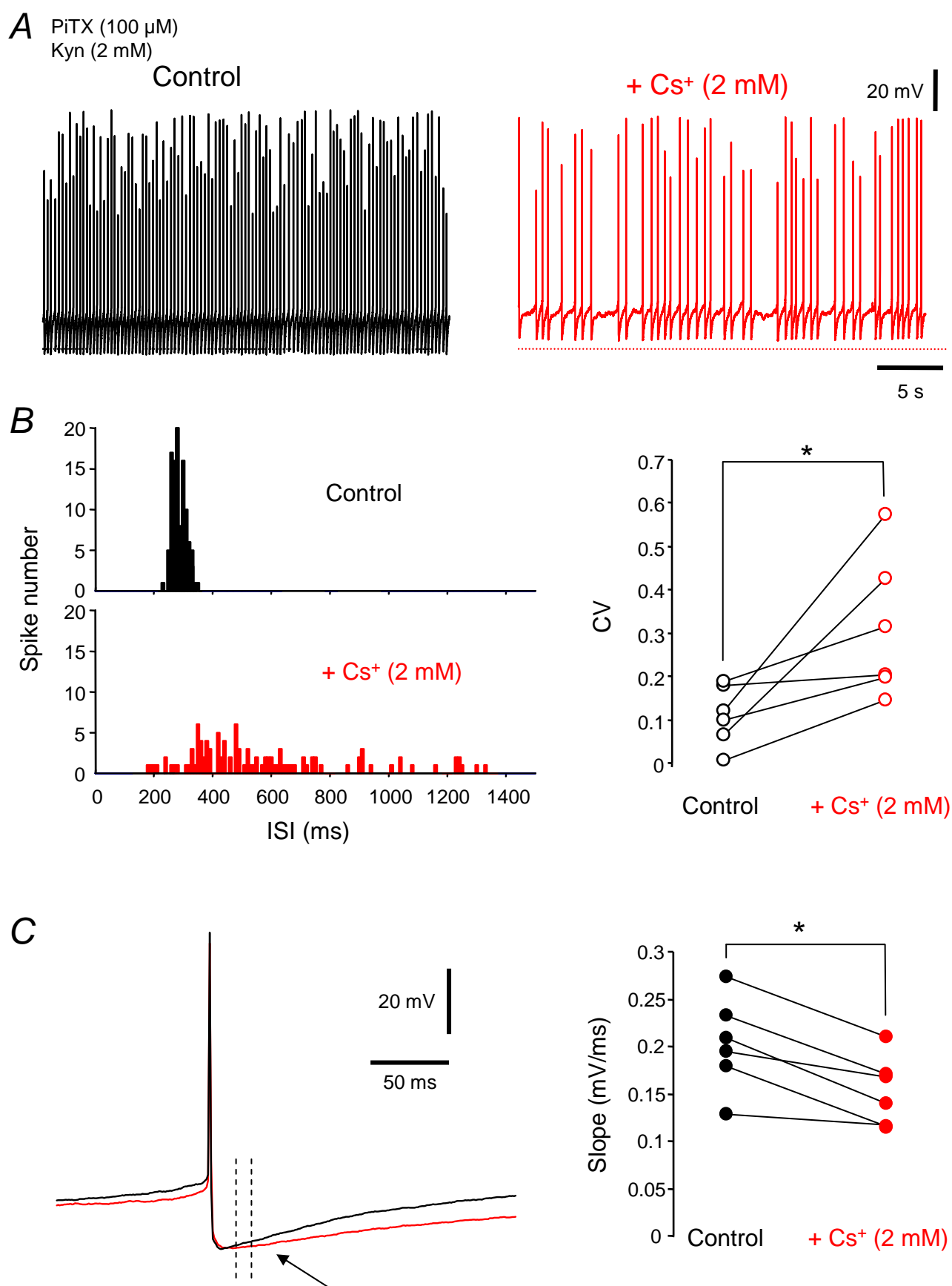


Figure 8

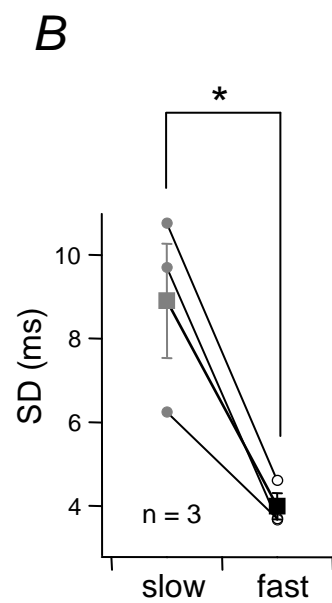
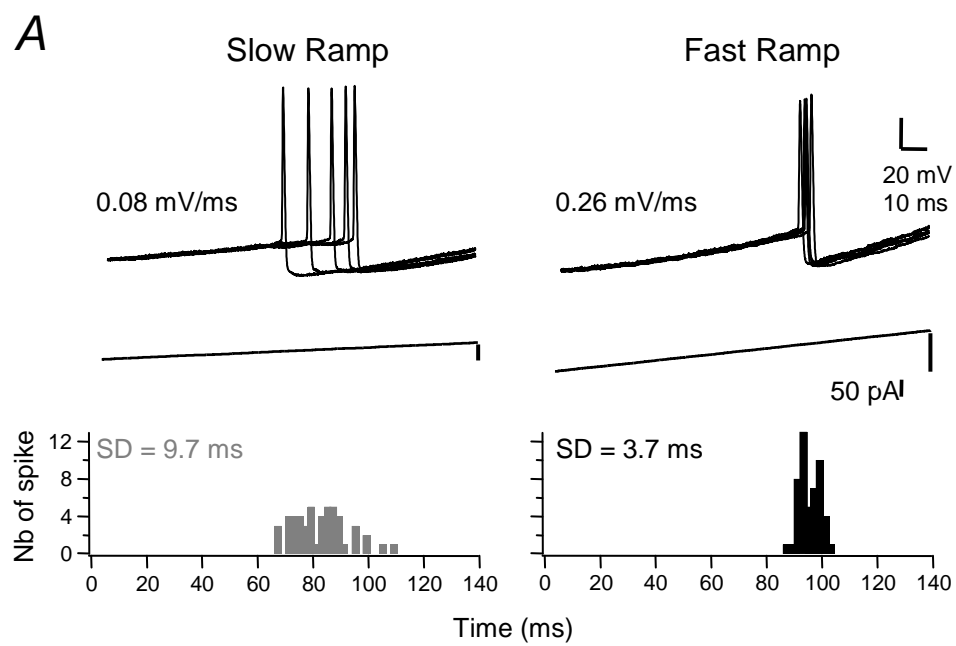
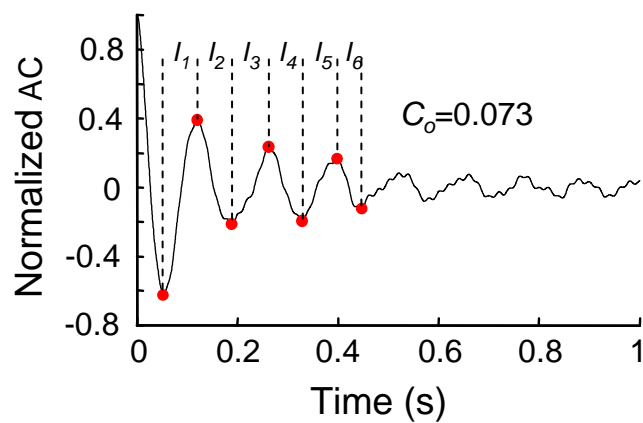
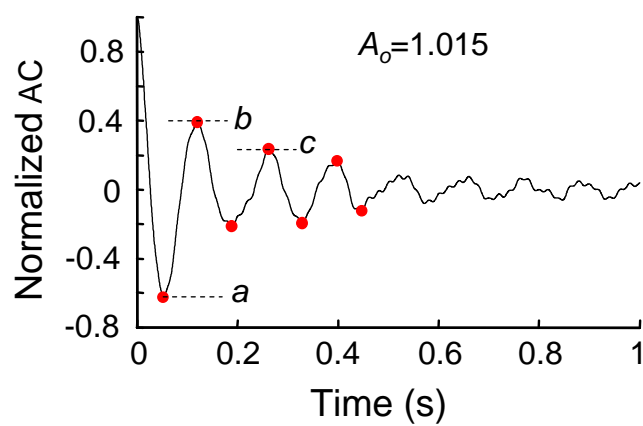


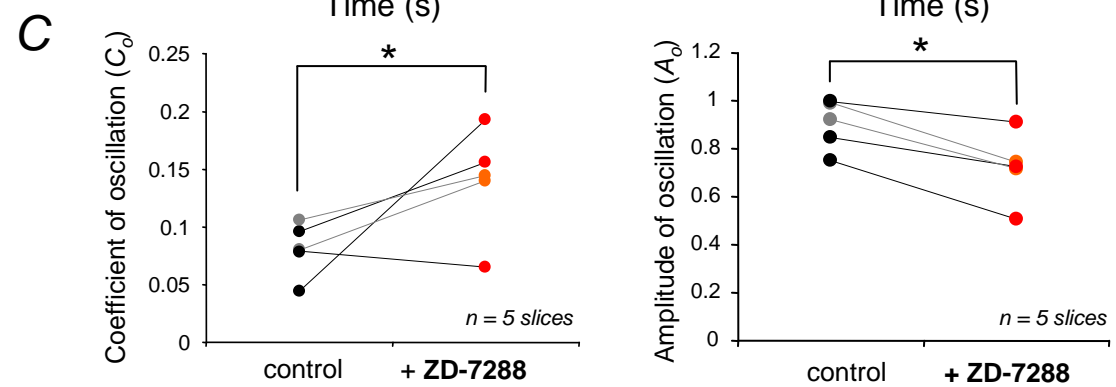
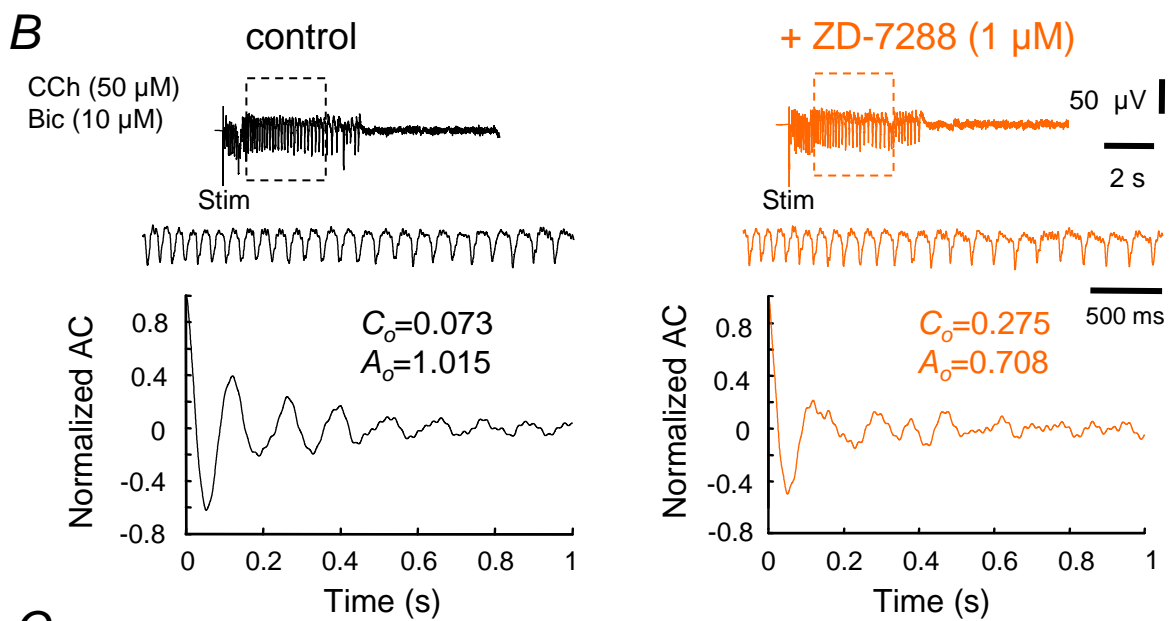
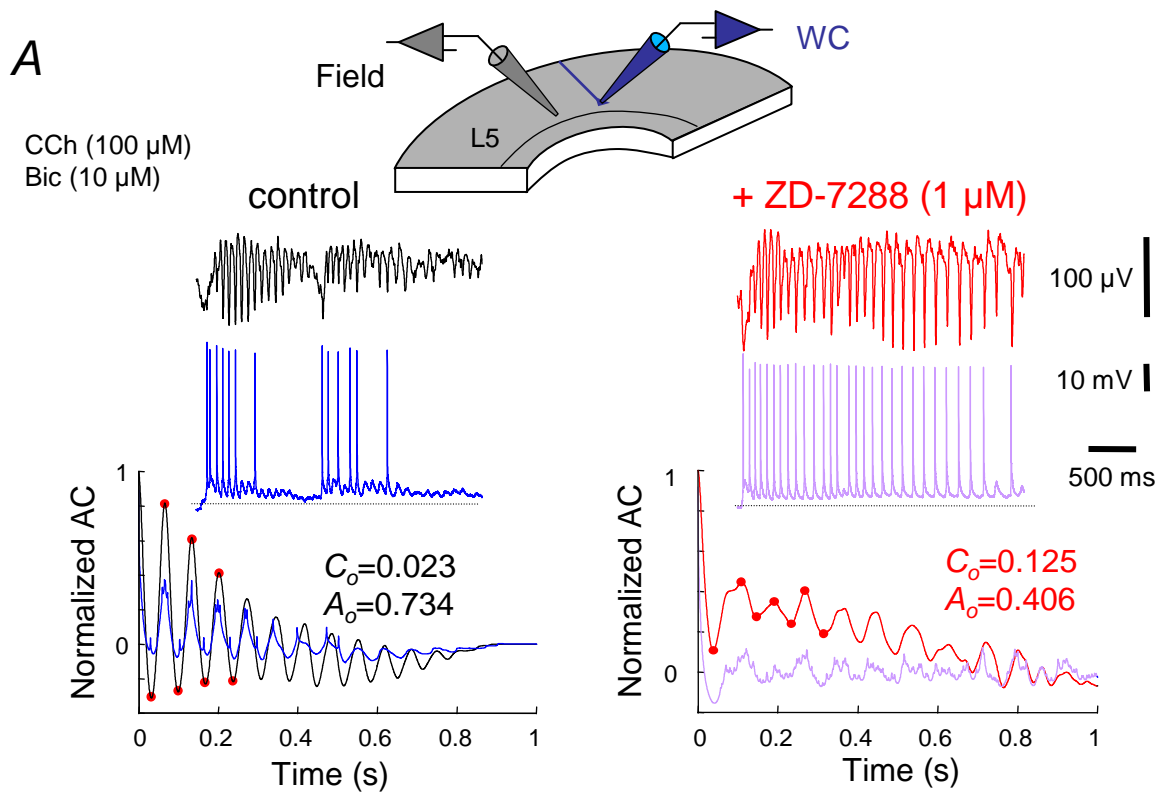
Figure 9

A $C_o = \text{SD} (I_n) / \text{mean} (I_n)$



B $A_o = [(b+c)/2] - a$





Suppl. Figure 2